



**PERBANDINGAN JUMLAH SEL LIMFOSIT
PADA SOKET ALVEOLAR TIKUS WISTAR
DENGAN APLIKASI *TOOTHGRAFT* DAN
BOVINEGRAFT PASCA PENCABUTAN**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

oleh :

**BRIAN BARA MAULANA WIJAYA
145070407111003**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**





**PERBANDINGAN JUMLAH SEL LIMFOSIT
PADA SOKET ALVEOLAR TIKUS WISTAR
DENGAN APLIKASI *TOOTHGRAFT* DAN
BOVINEGRAFT PASCA PENCABUTAN**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

oleh :

**BRIAN BARA MAULANA WIJAYA
145070407111003**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Pernyataan Orisinalitas Skripsi	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Istilah, Simbol, dan Singkatan	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1.....	L
atar Belakang	1
1.2.....	R
umusan Masalah	3
1.3.....	T
ujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4.....	M
manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
2.1 Pertumbuhan Tulang	
(Modeling dan Remodelling Tulang)	5
2.2 Sel Tulang	7
2.2.1 Sel Osteoprogenitors	8
2.2.2 Osteoblas	8
2.2.3 Osteosit	9
2.2.4 Osteoklas	10
2.3 Luka.....	11
2.3.1 Proses Penyembuhan Luka	12
2.3.1.1 Fase Inflamasi	12
2.3.1.2 Fase Proliferasi.....	13
2.3.1.3 Fase Remodelling.....	14

2.3.2 Periodontal Regeneration	14
2.4 Limfosit	15
2.4.1 Limfosit T	17
2.4.2 Limfosit B	19
2.4.3 Peran Limfosit Pada Penyembuhan Luka	21
2.5 Biomaterial (<i>Bonegraft</i>).....	22
2.5.1 Jenis Material <i>Bonegraft</i>	23
2.5.2 <i>Toothgraft</i>	24
2.5.3 <i>Bovinegraft</i>	27
2.5.4 <i>Bone Graft</i> sebagai <i>Socket Preservation</i>	27
2.6 Pencabutan Gigi	29
2.7 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	29

BAB III KERANGKA KONSEP DAN

HIPOTESIS PENELITIAN.....	33
3.1 Kerangka Konsep	33
3.2 Hipotesis Penelitian	34

BAB IV METODE PENELITIAN.....

4.1 Rancangan Penelitian	35
4.2.....	Sa
mpel Penelitian	36
4.2.1 Kriteria Sampel Penelitian.....	36
4.3 Variabel Penelitian	38
4.3.1 Variabel Bebas	38
4.3.2 Variabel Terikat	38
4.3.3 Variabel Terkendali	38
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	39
4.5.....	Al
at dan Bahan Penelitian	39
4.5.1 Alat Penelitian	39
4.5.2 Bahan Penelitian	40
4.6 Definisi Operasional	41
4.7 Prosedur Penelitian	41
4.7.1 Persiapan Hewan Coba	41
4.7.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba	42
4.7.3 Operasi Hewan Coba Tikus Wistar	42
4.7.4 Perlakuan Kelompok Hewan Coba.....	42
4.7.5 Pengambilan Sampel	44

4.7.6 Pembuatan Sediaan Histologi	44
4.7.7 Perhitungan Jumlah limfosit	45
4.8 Analisis Data	47
4.9 Alur Penelitian	48
4.10 Etik Penelitian	49
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	51
5.1 Hasil Penelitian	51
5.2 Analisis Data	56
5.2.1 Uji Normalitas Data	56
5.2.2 Uji Homogenitas Ragam	56
5.2.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	57
5.2.4 Uji <i>Post Hoc Tukey</i> (HSD)	58
5.2.5 Uji Korelasi Pearson	59
BAB VI PEMBAHASAN	61
Pembahasan	61
BAB VII PENUTUP	67
7.1 Kesimpulan	67
7.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	81

DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
Tabel 3.1	Kerangka Konsep.....	33
Tabel 4.1	Desain Penelitian.....	35
Tabel 4.9	Alur Penelitian.....	48
Tabel 5.1	Jumlah Rerata Sel Limfosit per Preparat.....	54
Tabel 5.2	Hasil Penghitungan Rerata Jumlah Limfosit Kelompok Perlakuan Bovinegraft dan Toothgraft pada hari ke-14 dan ke-30.....	55
Tabel 5.3	Uji Normalitas Data Sel Limfosit.....	56
Tabel 5.4	Uji Homogenitas Ragam Sel Limfosit	56
Tabel 5.5	Uji <i>One Way ANOVA</i>	57
Tabel 5.6	Uji <i>Post Hoc Tukey (HSD)</i>	58
Tabel 5.7	Uji Korelasi <i>Pearson</i>	60

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Siklus remodeling tulang.....	7
Gambar 2.2	Sel Tulang.....	9
Gambar 2.3	<i>Osteoclast regulation</i>	11
Gambar 2.4	Proses Penyembuhan Luka.....	12
Gambar 2.5	Limfosit dengan pewarnaan HE.....	17
Gambar 2.6	Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	30
Gambar 5.1	Limfosit (ditunjuk panah warna hijau) pada potongan tulang mandibula tikus Wistar hari ke-14 dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x. (K1) Pasca aplikasi <i>bovinegraft</i> dengan pewarnaan HE hari ke-14, (P1) Pasca aplikasi <i>toothgraft</i> dengan pewarnaan HE hari ke-14	52
Gambar 5.2	Limfosit (ditunjuk panah warna hijau) pada potongan tulang mandibula tikus Wistar hari ke-30 dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x. (K2) Pasca aplikasi <i>bovinegraft</i> dengan pewarnaan HE hari ke-30, (P2) Pasca aplikasi <i>toothgraft</i> dengan pewarnaan HE hari ke-30	53
Gambar 5.3	Diagram Rata-Rata Jumlah Fibroblas pada Hari ke- 14 dan ke-30	55

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran	Halaman
Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan	81
Lampiran 2	Hasil Analisis Data	82
Lampiran 3	Foto Penelitian	85
Lampiran 4	Ethical Clearence	87
Lampiran 5	Surat Keterangan Penggunaan Lab. Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.....	88

DAFTAR ISTILAH, SIMBOL, DAN SINGKATAN

ACP	: <i>Amorphous Calcium Phosphate</i>
ADCC	: <i>Antibody dependent Cell-Mediated Cytotoxicity</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenic Protein</i>
CD	: <i>Cell-Derived</i>
ECM	: <i>Extra Cellular Matrix</i>
HA	: <i>Hydroxy Apatite</i>
HE	: <i>Haematoxylin Eosin</i>
HSD	: <i>Honestly Significance Difference</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
NCP	: <i>Non-Collagenous Protein</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
OCP	: <i>Octacalcium Phosphate</i>
OlyVIA	: <i>Olympus Viewer for Imaging Applications</i>
OPN	: <i>Osteopontin</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TCP	: <i>Tricalcium Phosphate</i>

ABSTRAK

Brian Bara Maulana Wijaya, 145070407111003, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 1 Agustus 2018, "**Perbandingan Jumlah Sel Limfosit Pada Soket Alveolar Tikus Wistar dengan Aplikasi *Toothgraft* dan *Bovinegraft* Pasca Pencabutan**". Tim Pembimbing: (1) drg. Ega L.C. Kumala, Sp. Perio. (2) drg. Trining Widodorini, M.Kes.

Bovinegraft sebagai bahan pengganti tulang terkadang menimbulkan reaksi penolakan dari tubuh. Bahan *toothgraft* dari gigi yang diekstraksi memiliki kemiripan substansi dengan tulang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis perbandingan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* pasca pencabutan dilihat dari jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar. Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratoris menggunakan 24 sampel yang dibagi menjadi 4 kelompok. Keempat kelompok dilakukan pencabutan gigi insisif pertama mandibula, pada 2 kelompok diaplikasikan *toothgraft* dan 2 kelompok diaplikasikan *bovinegraft* selama 14 hari dan 30 hari. Jumlah sel limfosit dihitung secara manual. Hasil analisis data dengan uji statistik *One Way ANOVA* dan *Post Hoc* menunjukkan nilai yang signifikan ($p = 0,000$) pada jumlah sel limfosit pasca aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* pada hari ke-14 maupun hari ke-30. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahan *toothgraft* lebih rendah jumlah sel limfositnya dibandingkan bahan *bovinegraft* baik pada hari ke-14 maupun ke-30.

Kata Kunci: *Bovinegraft*, sel limfosit, *toothgraft*.

ABSTRACT

Brian Bara Maulana Wijaya, 145070407111003, Dentistry Undergraduate Study Program, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 1st August 2018, **“Comparison of Lymphocyte Cell Counts on Wistar Rat Alveolar Sockets with Application of Toothgraft and Bovinegraft Post-Extraction”**. Supervisor: (1) drg. Ega L.C. Kumala, Sp. Perio. (2) drg. Trining Widodorini, M.Kes.

Bovinegraft as a bone replacement material sometimes causes a rejection reaction from the body. The toothgraft material from the extracted tooth has similar substance to bone. The purpose of this study was to analyze the comparison of the application of toothgraft and bovinegraft post-extraction seen from the number of lymphocytes in the alveolar socket of Wistar rats. The method used was laboratory experimental using 24 samples divided into 4 groups. The four groups were extracted from the first mandibular incisor, with 2 groups applied toothgraft and 2 groups applied bovinegraft for 14 days and 30 days. The number of lymphocyte cells is calculated manually. The results of data analysis with One Way ANOVA and Post Hoc statistical tests showed significant values ($p = 0,000$) in lymphocyte cell counts after toothgraft and bovinegraft application on the 14th and 30th days. The conclusion of this study is that the toothgraft material has a lower number of lymphocyte cells than the bovinegraft material both on the 14th and 30th days.

Keyword : Bovinegraft, lymphocyte cell, toothgraft.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ekstraksi gigi atau pencabutan gigi merupakan tindakan pembedahan dengan tujuan penghilangan gigi dari soketnya (Wray *et al.*, 2003). Ekstraksi gigi dapat mengakibatkan terganggunya kontinuitas jaringan dan kerusakan jaringan yang disebut dengan luka. Penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi melibatkan proses penyembuhan pada jaringan lunak yaitu jaringan ikat dan epitel gingiva serta pada jaringan keras yaitu tulang alveolar (Lawler *et al.*, 2002).

Soket gigi setelah pencabutan perlu segera ditangani untuk mencegah terjadinya resorpsi pada *alveolar ridge*. Resorpsi terbesar terjadi pada dimensi horisontal terutama pada dinding bukal tulang alveolar. Resorpsi vertikal juga sering terjadi mengakibatkan memendeknya tulang alveolar sehingga menjadi sempit dan pendek yang mempengaruhi pada proses penyembuhan (Kubilius *et al.*, 2012). Relokasi *ridge* ke arah palatal atau lingual juga dapat terjadi (Iasella *et al.*, 2003).

Upaya meningkatkan regenerasi tulang pada defek tulang alveolar di sekitar soket gigi dapat menggunakan beberapa tipe bahan *graft* tulang (Tae-II Kim *et al.*, 2010). Syarat yang harus dipenuhi oleh *bone graft* yang baik adalah dapat diterima tubuh atau *biocompatible* dan memiliki sifat osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang. Osteokonduktif dan osteoinduktif adalah hal

terpenting bagi biomaterial untuk mengarahkan dan mendorong pembentukan pertumbuhan jaringan (Gigante, 2010).

Menurut Garagiola (2009), ciri ideal material *graft* antara lain adalah bahan tersebut dapat seutuhnya diterima oleh organisme yang hidup (*excellent biocompatibility*), meningkatkan konduksi pembentukan tulang baru dari dinding defek tulang *host* (*high osteoconductivity*), memungkinkan revaskularisasi oleh tulang *host*, *high porosity* yang memungkinkan bahan bergabung dengan tulang baru, *moderately slow resorption* sehingga terjadi remodeling dalam jangka waktu yang lama serta mempunyai modulus elastisitas yang adekuat.

Graft tulang autogenus telah menjadi *gold standard* untuk prosedur regeneratif yang sukses karena dapat mendukung sifat osteogenik, osteoinduktif, dan osteokonduktif yang berhubungan dengan sel-sel preosteoblastik dalam *graft*. Namun penggunaan bahan ini masih menyulitkan pasien dan ahli bedah karena membutuhkan perluasan area bedah dan beberapa kerugian diantaranya, ketersediaan yang terbatas, morbiditas pasien, dan laju resorpsi yang tidak teratur. Oleh karena itu, berbagai macam bahan substitusi allogenik telah dikembangkan sebagai kandidat alternatif untuk migrasi dan proliferasi osteoblast (Young *et al.*, 2013).

Tulang sapi (*bovine bone*) sebagai bahan *xenograft* telah diteliti dan digunakan secara luas di klinik. *Bovinegraft* telah melalui proses *heat treatment* dan *chemical extraction* untuk membuang komponen organik, tetapi tetap menjaga kontur alami *cancellous bone* (Baldini *et al.*, 2011). Walaupun telah dilakukan proses

deproteinasi pada *bovine bone*, tetapi transmisi penyakit masih mungkin terjadi. Oleh karena itu, perlu untuk mencari alternatif tipe donor yang tidak berisiko (Tae-II Kim *et al.*, 2010).

Toothgraft material adalah sistem perawatan pasien dengan membuat material *bone graft* dari gigi yang diekstraksi. (Park, 2012). Setiap biomaterial yang diimplantasikan pada jaringan tubuh tidak akan secara langsung dapat diterima oleh jaringan dan menimbulkan respon inflamasi. Indikator inflamasi yang sering diteliti adalah sel polimorfonuklear (PMN), limfosit, makrofag, dan mediator inflamasi lainnya (Anderson, 2001). Limfosit berperan dalam sistem imun, pertahanan terhadap mikroorganisme, makromolekul asing, dan sel-sel kanker. Limfosit memiliki fungsi fagositik dan dapat kembali menuju sirkulasi darah dari jaringan (Paulsen, 2000).

Penggunaan gigi sebagai material *graft* belum banyak digunakan di Indonesia. Oleh karena itu, peneliti ingin meneliti perbandingan jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus wistar dengan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* pasca pencabutan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perbandingan jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar pasca pencabutan dan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis peran aplikasi *toothgraft* dalam proses penyembuhan soket alveolar tikus Wistar pasca pencabutan.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menghitung jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *toothgraft* pasca pencabutan di hari ke-14 dan ke-30.
2. Menghitung jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *bovinegraft* pasca pencabutan di hari ke-14 dan ke-30.
3. Menganalisis perbandingan jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* pasca pencabutan di hari ke-14 dan ke-30.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Upaya pencarian material *graft* alternatif dalam proses penyembuhan tulang yang dapat diterima dengan baik oleh tubuh.

1.4.2 Manfaat Praktis

Pemanfaatan *toothgraft* sebagai alternatif material *graft* selain *bovinegraft* di bidang kedokteran gigi mampu berperan meningkatkan keberhasilan perawatan regenerative dan minim *rejection*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pertumbuhan Tulang (Modeling dan Remodelling Tulang)

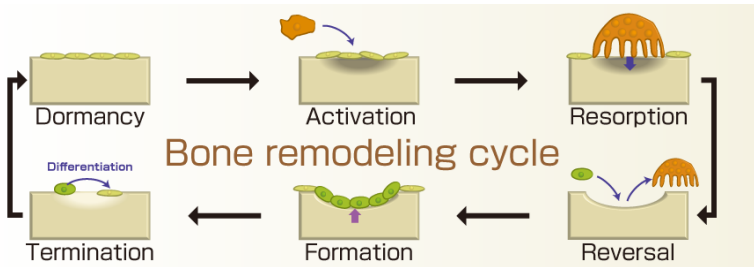
Pertumbuhan tulang adalah terminologi yang digunakan untuk menggambarkan perubahan struktur tulang yakni pada saat pembentukan skeleton, pertumbuhan, dan pematangan (Baron, 2006). Pertumbuhan tulang (modeling) mengarah ke proses pengubahan ukuran dan bentuk tulang. Remodeling adalah proses regenerasi yang terjadi secara terus menerus dengan mengganti tulang yang lama (*old bone*) dengan tulang yang baru (*new bone*). Tempat dimana terjadi peristiwa remodeling diberi istilah *basic multicellular units* (BMUs) atau bone remodeling unit. Remodeling berlangsung antara 2-8 minggu dimana waktu terjadinya pembentukan tulang berlangsung lebih lama dibanding dengan terjadinya resorpsi tulang (Monologas, 2000).

Proses remodeling berlangsung sejak pertumbuhan tulang sampai akhir kehidupan. Tujuan remodeling tulang belum diketahui secara pasti, tetapi aktivitas tersebut dapat berfungsi antara lain untuk:

1. Mempertahankan kadar ion kalsium dan fosfat ekstraseluler.
2. Memperbaiki kekuatan skeleton sebagai respon terhadap beban mekanik.
3. Memperbaiki kerusakan (repair fatigue damage) tulang dan,
4. Mencegah penuaan sel tulang (Monologas, 2000; Baron, 2006; Murray, 2009).

Modeling dan remodeling akan mencapai dua hal dalam kehidupan seseorang yaitu: pemanjangan tulang (*longitudinal bone growth*) dan kepadatan tulang (*bone massa*). (Baron, 2006).

Remodelling merupakan reorganisasi atau renovasi struktur tulang lama. Resorpsi jaringan tulang dan deposisi simultan tulang baru terjadi pada tulang normal, kedua proses ini berasal dari keseimbangan yang dinamis (Dorland, 2010). Menurut Mills (2007), remodeling adalah proses yang dinamis, pada proses remodelling terjadi pengurangan dan penggantian tulang baik kortikal atau tulang trabekular. Proses remodelling akan berlanjut sepanjang hidup untuk mempertahankan masa tulang, integritas kerangka, dan fungsi kerangka. Kejadian tersebut sangat kompleks dan sebagian dikontrol oleh sistem syaraf pusat melewati hormon (contohnya leptin) dan induksi mekanik dari kerusakan kecil. Proses remodelling juga sangat bergantung pada integrasi gerakan dari osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Sel-sel tersebut secara bersamaan membentuk basic cellular unit dari tulang, pada saat dewasa resorpsi dalam remodeling tulang kira-kira terjadi sebanyak 10% dan jumlah kerangka pertahunnya. Proses remodeling diawali pada permukaan tulang dan tergabung dalam beberapa tahapan aktivitas sel yaitu aktivasi, resorpsi, reversal (pengembalian), dan formasi atau pembentukan tulang (Mills, 2007).



Gambar 2.1 Siklus remodeling tulang (Takenaka, 2011).

Tahap aktivasi bergantung pada sel yang berdiferensiasi menjadi osteoblas, yang ada di permukaan tulang atau sumsum tulang, bertindak pada prekursor sel darah (sel *hematopoietik*) untuk membentuk osteoklas yang akan menyerap tulang. Proses resorpsi terjadi di bawah lapisan sel (lining sel). Setelah fase reversal, osteoblas memulai untuk membentuk tulang baru. Sisa osteoblas di dalam tulang akan berubah menjadi osteosit. Osteosit akan berhubungan satu sama lain dan dihubungkan juga ke permukaan osteoblas. Fase resorpsi berakhir hanya pada beberapa minggu tetapi fase formasi terjadi lebih lambat, yaitu berlangsung selama beberapa bulan untuk melengkapinya.

2.2 Sel Tulang

Tulang memiliki komponen seluler yang terdiri dari berbagai macam sel tulang. Sel tersebut antara lain prekursor osteogenik atau osteoprogenitor, osteoblas, osteosit dan osteoklas serta elemen hematopoietik dari sumsum tulang (Kalfas, 2001), sedangkan

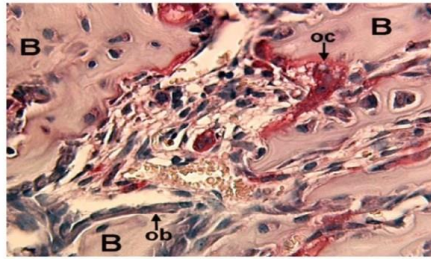
komponen ekstraseluler terdiri dari bahan organik dan anorganik pembentuk matriks (Samuelson, 2007).

2.2.1 Sel Osteoprogenitors

Komponen-komponen seluler tulang terdapat pada lapisan periosteum, saluran *Haver's*, *Volkman*, dan kanalis medullaris. Sel osteoprogenitor merupakan sel primitif turunan sel mesenkimal yang dapat membentuk sel osteoblas (Mills, 2007). Sel tersebut terdapat pada *innercells*, *celuler layer* periosteum, endosteum dan batas pembuluh darah pada matriks tulang (Akers and Denbow, 2008).

2.2.2 Osteoblas

Osteoblas adalah sel yang bertanggungjawab untuk mensintesis, mentransfer dan mengatur komponen bahan organik matriks tulang yang disebut osteoid atau prebone (Mills, 2007). Bahan organik tersebut berupa kolagen, proteoglycans dan glycoprotein. Osteoblas berasal dari sel osteogenik yang ada pada permukaan tulang. Bentuk osteoblas dalam keadaan metabolisme aktif cenderung lebih kuboid dan basofilik. Saat osteoblas dalam keadaan tidak aktif mensintesis osteoid, sel ini berbentuk gepeng dan bersifat kurang basofilik (Samuelson, 2007).



Gambar 2.2 Sel Tulang (ob=osteoblas; oc=osteoklas)
(Depster, 2001)

Osteoblas memiliki peran penting dalam membentuk dan menjaga bentuk skeletal, deposisi matrix tulang, dan regulasi osteoclast. Osteoblas merupakan sel berinti satu, bukan hasil akhir diferensiasi, dan merupakan *specialized cells* (Canhao *et al.*, 2005). Ketika osteoblas aktif, maka golgi apparatus dan sejumlah besar reticulum endoplasma dapat terlihat. Selain itu, osteoblas membentuk ikatan yang kuat dengan sel osteoblas di dekatnya dan memiliki daerah pada membran plasma khusus untuk sekresi dan lalu lintas vesicular. Ketika osteoblas berdiferensiasi, maka mereka mendapatkan kemampuan untuk mensekresi matrix tulang. Beberapa osteoblas terperangkap dalam matrix tulang sehingga terjadi peningkatan jumlah osteoid, yang secara berangsur-angsur menghentikan sekresi osteosit (Mackie, 2003).

2.2.3 Osteosit

Osteosit merupakan sel yang paling banyak terdapat pada tulang. Sel ini berkomunikasi dengan sesamanya dan dengan

lingkungan sekitar melalui perpanjangan dari plasma membrannya. Osteosit bertindak sebagai sensor mekanik, menginstruksikan osteoklas dimana dan kapan harus meresorpsi osteoblas harus membentuknya (Seeman and Delmas, 2006).

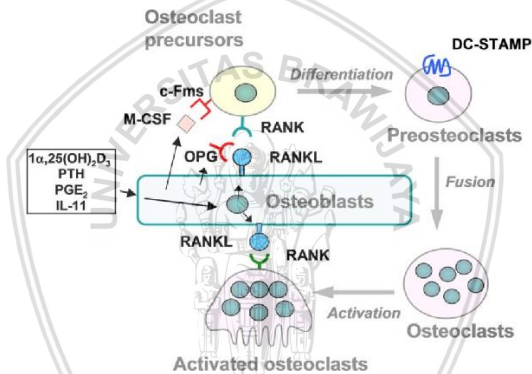
Osteosit adalah sel utama pada tulang dewasa dan menempati lakuna yang dikelilingi oleh matriks berkapur (Dellman and Brown, 1992). Osteosit merupakan sel dewasa pada tulang yang mengisi sebagian besar populasi sel-sel 8 tulang. Sel ini berbentuk jaring laba-laba (spider-shaped) yang ditemukan pada lakuna (ruang kecil pada pertemuan lamela). Hanya satu osteosit yang ditemukan pada setiap lakuna. Osteosit dapat mensintesis dan mengabsorpsi matriks tulang. Jika osteosit mati, maka akan terjadi aktivitas dari osteoklas yang kemudian diikuti oleh perbaikan atau remodelling oleh aktivitas osteoblas. Sel lain yang menyusun tulang adalah sel osteoprogenitor (Akers and Denbow, 2008).

2.2.4 Osteoklas

Osteoklas adalah multinukleat giant sel yang memiliki 6-50 atau lebih inti sel yang berperan dalam penyerapan dan remodeling jaringan tulang (Samuelson, 2007). Ukuran diameternya sekitar 40 sampai 100 μm . Sitoplasma bersifat acidophilic, kaya akan lisosom, memiliki banyak mitokondria dan apparatus golgi. Osteoklas berasal dari organ sumsum tulang dan merupakan derivat dari gabungan monosit. Pada proses pertumbuhan dan dalam remodeling tulang, osteoklas akan secara *continue* melakukan penyerapan (osteoclastia). Proses ini merupakan hasil sekresi dari beragam material yaitu asam

laktat dan asam sitrat yang memiliki pH rendah dan memfasilitasi pembebasan mineral, serta enzim hidrolitik kuat (*acid hydrolase, collagenase, dll.*) yang mampu mencerna *extra cellular matrix* (ECM).

Setiap osteoklas melalui proses enzimatik kemudian mendepresi bagian *howship's lacuna* atau *resorption bay*. Selama tulang aktif melakukan penyerapan, sel tersebut akan berkontak langsung dengan matriks tulang (Samuelson, 2007; Mills, 2007).



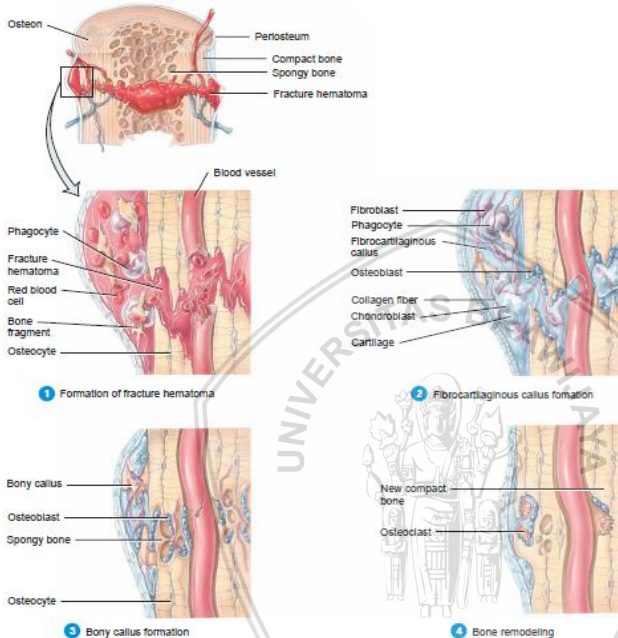
Gambar 2.3 *Osteoclast regulation* (Naoyuki *et al.*, 2011)

2.3 Luka

Luka merupakan kerusakan jaringan tubuh oleh karena jejas fisik ataupun kimia yang mengakibatkan gangguan struktur normal. Luka dapat terjadi akibat kondisi patologis ataupun trauma. Namun luka dapat dibuat untuk tujuan tertentu, seperti luka insisi pada operasi. Sebagai usaha tubuh untuk menyembuhkan luka maka akan terjadi reaksi inflamasi yang berusaha mengembalikan jaringan luka ke kondisi awal sebelum luka (Peterson, 2004).

2.3.1 Proses Penyembuhan Luka

Terdapat 3 fase dalam proses penyembuhan pasca ekstraksi gigi, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling.



Gambar 2.4 Proses Penyembuhan Luka (Tortora and Derrickson, 2008)

2.3.1.1 Fase Inflamasi

Fase inflamasi akan terjadi 24-48 jam setelah perlukaan. Pada fase ini soket akan terisi oleh gumpalan darah yang berasal dari pembuluh darah pada ligamen periodontal dan foramen apikal yang rusak saat proses pencabutan (Brandao *et al.*, 2002). Netrofil, makrofag dan limfosit akan bermigrasi ke daerah luka. Fase

inflamasi bertujuan untuk membersihkan benda asing dan mikroba pada daerah luka (Andersson *et al.*, 2010).

2.3.1.2 Fase Proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke-3 hingga hari ke-14. Fase ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler dan sel inflamasi. Fibroblas muncul pertama kali pada hari ke-3 dan mencapai puncaknya pada hari ke-7. Pertumbuhan fibroblas dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas juga menghasilkan kolagen dalam jumlah yang besar. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke-3 setelah luka dan meningkat sampai minggu ketiga. Kolagen terus menumpuk sampai 3 bulan (Nugroho, 2005; Sudrajat, 2006).

Pada fase proliferasi akan terjadi proliferasi dan migrasi fibroblas dan sel endotel ke daerah luka. Fibroblas akan menghasilkan kolagen dan komponen matriks ekstraseluler, sehingga gumpalan darah akan mulai digantikan oleh jaringan granulasi (Brandao *et al.*, 2002).

Secara histologis pada fase proliferasi proses penyembuhan luka tulang diawali dengan proses mineralisasi soft callus. Kolagen tipe I yang menyusun matriks akan disintesa oleh osteoblas menjadi hard callus pada hari ke-7 pasca fraktur (Junqueira dkk., 2013). Peranan kolagen pada proses penyembuhan tulang yang rusak, berhubungan dengan pembentukan serabut kolagen tipe I oleh

fibroblas yang memberi kemampuan jaringan untuk membentuk jaringan baru (Kalfas, 2001).

2.3.1.3 Fase Remodelling

Fase remodeling merupakan fase yang membutuhkan waktu lama pada penyembuhan luka. Pada fase ini kolagen sudah terorganisasi dengan baik, jaringan granulasi mulai digantikan dengan matriks sementara dan trabekula mulai memenuhi soket. Epitelisasi pada permukaan luka sudah sempurna pada fase ini (Saraf, 2006). Remodelling bisa memakan waktu 2 tahun setelah terjadinya luka, sehingga luka yang terlihat telah sembuh dapat rusak kembali dengan cepat bila tidak diperhatikan faktor kausatif awalnya (Keast and Orsted, 2002).

Proses remodeling meliputi dua aktivitas yaitu: proses resorpsi tulang (*bone resorption*) yang diikuti oleh proses pembentukan tulang baru (*bone formation*), proses yang pertama dikenal sebagai aktivitas osteoklas sedang yang kedua dikenal sebagai aktivitas osteoblas (Murray, 2009).

2.3.2 Periodontal Regeneration

Terapi periodontal bertujuan untuk regenerasi jaringan periodontal. Proses penyembuhan biasanya melibatkan proses regenerasi yang merupakan suatu proses rekonstruksi atau reproduksi dari sebuah lesi untuk mengembalikan bentuk dan fungsi awal dari jaringan yang terkena lesi tersebut.

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang dinamis, bersifat *continous* (berlangsung terus menerus), *overlapping* (tumpang tindih), terdiri atas fase-fase. Proses penyembuhan luka pada manusia adalah sebagai berikut: hemostasis, inflamasi, diferensiasi, proliferasi, migrasi sel mesenkim ke sisi luka, angiogenesis, re-epitelisasi, sintesis dan pengaturan kolagen, maturasi vaskular (remodeling). (Guo and DiPietro, 2010).

Dalam remodeling tulang, sel osteoblas membutuhkan *scaffold* dan induksi mediator agar mencapai defek. *Scaffold* berperan mendukung perlekatan sel dan proliferasi pada defek, stabilisasi bekuan darah sehingga mencegah kerusakan jaringan (tahap awal regenerasi). Faktor pertumbuhan menstimulasi migrasi sel ke defek dan meningkatkan proliferasi dan mitogenesis sel (Lopes *et al.*, 2007).

Proses regenerasi jaringan periodontal membutuhkan sel progenitor secara lokal. Sel progenitor ini akan berdiferensiasi menjadi sel pembentuk ligamen periodontal, sementoblast, maupun pembentuk osteoblas, sehingga kunci keberhasilan regenerasi jaringan periodontal adalah menstimulasi sel progenitor untuk mengisi defek atau kerusakan. Faktor pertumbuhan merupakan pengatur penting dalam proses regenerasi jaringan periodontal, meliputi migrasi, perlekatan, proliferasi, diferensiasi sel progenitor periodontal (Bartold *et al.*, 2006).

2.4 Limfosit

Limfosit merupakan suatu famili sel yang berbentuk sferis (bulat) dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat

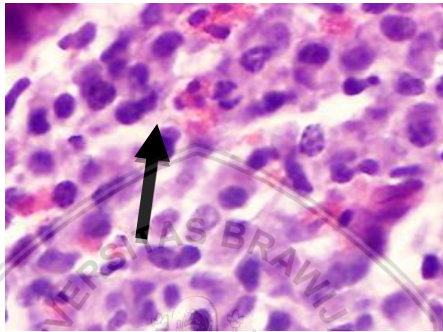
diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang mencolok (penanda), yang dapat dikenali dengan metode imunositokimia. Limfosit juga memiliki berbagai peran fungsional, dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, makro molekul asing, dan sel-sel kanker (Junqueira, *et al.*, 2013).

Limfosit merupakan sel utama pada sistem getah bening, memiliki ukuran yang relatif lebih kecil daripada makrofag dan neutrofil. Neutrofil memiliki umur kurang dari 7-10 hari. Rentang usia dari limfosit sekitar 100-300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel-sel ini secara kontinu beredar diantara jaringan limfoid, limfe, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja di dalam darah. Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di darah setiap waktu tertentu (Sherwood, 2011).

Limfosit merupakan sel-sel bulat (*sferis*) di dalam darah manusia mempunyai diameter yang bervariasi antara 6-8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Pada jaringan ikat, limfosit merupakan sel yang paling kecil di antara sel bebas, kebanyakan berukuran hanya 7 sampai 8 μm . Limfosit memiliki inti bulat, gelap yang hampir memenuhi seluruh sel. Di sekitar inti terdapat sedikit sitoplasma homogen yang basofil (Leeson *et al.*, 1996).

Limfosit biasanya tidak banyak terdapat dalam jaringan ikat, tetapi banyak pada jaringan ikat di bawah epitel pembatas saluran cerna dan saluran napas. Kebanyakan limfosit dalam jaringan ikat

longgar diduga berasal dari sirkulasi darah. Pada biakan jaringan, limfosit terbentuk di dalam jaringan ikat dan menetap disana tetapi sel-sel setiap waktu dapat masuk-keluar sirkulasi (Leeson *et al.*, 1996).



Gambar 2.5 Limfosit dengan pewarnaan HE (Marques *et al.*, 2016)

2.4.1 Limfosit T

Limfosit-T timbul dari dalam sel induk sumsum tulang yang bermigrasi di timus, kemudian berdiferensiasi menjadi sel T dewasa dan meninggalkan timus. Sel T dewasa ikut aliran darah dan aliran limfe torakal dan juga berada di jaringan limfoid perifer. Sel T ini mengarahkan beragam unsur imunitas selular juga penting untuk menginduksi imunitas humoral yang berasal dari sel B terhadap antigen. Sel T berjumlah 60%-70% dari limfosit dalam sirkulasi darah dan juga merupakan tipe limfosit utama dalam selaput periarteriol limpa (Robbins and Kumar, 2007).

Limfosit T bertanggungjawab dalam pembentukan limfosit teraktivasi yang dapat membentuk imunitas diperantai sel. Saat terpapar antigen yang sesuai, limfosit T akan berproliferasi dan

melepaskan banyak sel T yang teraktivasi, yang kemudian akan masuk ke dalam sirkulasi dan disebarkan keseluruh tubuh, melewati dinding kapiler masuk ke dalam cairan limfe dan darah, dan bersirkulasi ke seluruh tubuh demikian seterusnya, kadang-kadang berlangsung sampai berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun (Guyton dan Hall, 2008). Respon sel T terhadap antigen sangat bersifat spesifik, sama seperti respon antibodi sel B. Pada kenyataannya respon imun adaptif membutuhkan bantuan sel T untuk memulainya dan sel T berperan penting untuk membantuelenyapkan patogen yang masuk. Ada tiga kelompok utama dari sel T yaitu sel T pembantu, sel T sitotoksik dan sel T supresor (Guyton dan Hall, 2008).

a) Sel Thelper (Sel Th / CD4)

Sel Th adalah sel yang membantu meningkatkan perkembangan sel B aktif menjadi sel plasma, memperkuat aktivitas sel T sitotoksik dan sel T supresor yang sesuai, dan mengaktifkan makrofag. Sel Th dapat dibedakan menjadi sel Th1 dan Th2.

Sel Th1 berperan sebagai limfosit yang akan melepaskan sitokin yang bersifat proinflamasi. Sitokin terpenting yang dihasilkan sel Th1 pada fase efektor adalah IFN- γ . IFN- γ akan memacu aktifitas pembunuhan mikroba sel-sel fagosit dengan meningkatkan destruksi intrasel pada mikroba yang difagositosis. Fungsi pokok efektor Th1 adalah sebagai pertahanan infeksi dimana proses fagositosis sangat diperlukan.

Sementara itu, sel Th2 berperan dalam memproduksi antibodi dengan menstimulasi sel B menjadi sel plasma. Diferensiasi Th2 muncul sebagai respon terhadap alergi dan parasit, melibatkan

reseptor sel T, IL-4, faktor transkripsi 'GATA-3' dan STAT6. IL-4 menstimulasi produksi IgE yang berfungsi dalam opsonisasi parasit. Sehingga Th2 adalah mediator untuk reaksi alergi dan pertahanan infeksi terhadap parasit. Th2 juga memproduksi sitokin seperti IL-4, IL-13, dan IL-10 yang bersifat antagonis terhadap IFN- γ dan menekan aktivasi makrofag. Jadi Th2 kemungkinan berfungsi sebagai regulator fisiologis pada respon imun dengan menghambat efek yg mungkin membahayakan dari respon Th1 (Sherwood, 2011).

b) Sel Tcytotoxic (Sel Tc / CD8)

Sel Tc adalah sel T yang menghasilkan sitotoksik untuk menghancurkan sel yang terinfeksi agen penyakit jika kontak dengan sel target dan menyebabkan kematian sel target (Nicholas, 2004).

c) Sel Tsuppresor (Sel Ts / CD8)

Sel Ts adalah sel yang berperan dalam membatasi reaksi imun melalui mekanisme "*check and balance*" dengan limfosit yang lain. Sel Ts menekan aktivitas sel T lainnya dan sel B. Sel Th dan sel Ts akan berinteraksi dengan adanya metode umpan balik. Sel Th membantu sel Ts beraksi dan sel Ts akan menekan sel T lainnya. Dengan demikian sel Ts dapat menghambat respon imun yang berlebihan dan bersifat antiinflamasi (Sherwood, 2011).

2.4.2 Limfosit B

Limfosit B merupakan kelompok limfosit yang bertanggungjawab dalam pembentukan antibodi yang memberikan imunitas humoral. Limfosit B ini mula-mula diolah lebih dahulu dalam hati selama masa pertengahan kehidupan janin dan sesudah

dilahirkan, kemudian sel ini bermigrasi ke jaringan limfoid di seluruh tubuh dimana mereka menempati daerah yang sedikit lebih kecil daripada limfosit-T (Guyton dan Hall, 2008).

Menurut Leeson *et al.*, (1996), limfosit ini bertugas untuk memproduksi antibodi (*humoral antibody response*) yang beredar dalam peredaran darah dan mengikat secara khusus dengan antigen asing yang menyebabkan terbentuknya antigen asing terikat antibodi (*Antibody-Coated Foreign Antigen*). Kompleks ini mempertinggi kemampuan fagositosis dan penghancuran oleh sel pembunuh ("*Nature Killer cell* atau *NK cell*") dari organisme yang menyerang. Jumlah limfosit B dalam total limfosit normal pada manusia adalah sekitar 15%. Nilai limfosit B mendapat rangsangan yang sesuai, akan membelah diri beberapa kali dan berdiferensiasi menjadi sel plasma dalam jaringan dan menghasilkan immunoglobulin.

Sel Th aktif juga akan merangsang sel limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi yang akan menetralkan atau meningkatkan fagositosis antigen dan lisis antigen oleh komplemen, serta meningkatkan sitotoksitas sel yang mengandung antigen yang dinamakan proses *antibody dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC). Tugas sel B akan dilaksanakan oleh immunoglobulin yang disekresi oleh sel plasma. Terdapat lima kelas immunoglobulin yang kita kenal, yaitu IgM, IgG, IgA, IgD, dan IgE. Hasil akhir aktivasi sel B adalah eliminasi antigen dan pembentukan sel memori yang kelak bila terpapar lagi dengan antigen serupa akan cepat berproliferasi dan berdiferensiasi (Sherwood, 2011; Junqueira dkk., 2013).

2.4.3 Peran Limfosit Pada Penyembuhan Luka

Limfosit umumnya terdapat pada eksudat dalam jumlah yang sangat kecil untuk waktu yang cukup lama yaitu sampai reaksi peradangan menjadi kronik (Prince and Wilson, 2005). Menurut Bellanti (1993) pada proses peradangan, limfosit berfungsi memberikan respons imunologik untuk melawan agen asing dengan fenomena humoral dan seluler spesifik. Limfosit memiliki peranan fungsional yang berbeda, yang semuanya berhubungan dengan reaksi imunitas dalam bertahan terhadap serangan mikroorganisme, makromolekul asing dan sel kanker. Limfosit T secara langsung menghancurkan sel-sel sasaran spesifik, suatu proses yang dikenal sebagai respon imun yang diperantarai sel hidup (respon imun seluler). Sel yang menjadi sasaran limfosit T mencakup sel-sel tubuh yang dimasuki oleh virus dan sel kanker (Sherwood, 2011).

Baik limfosit T maupun limfosit B juga memperlihatkan peristiwa memori imunologik. Setiap limfosit disiapkan untuk memberikan respon hanya terhadap satu antigen saja. Beberapa sel yang dihasilkan itu akan berkembang menjadi sel efektor misalnya sebuah limfosit B akan berkembang menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi. Sel lain tetap tidak aktif (sel memori) namun disiapkan untuk memberikan respon yang lebih cepat dan lebih hebat terhadap pertemuan berikut dengan antigen spesifik itu (Junqueira dkk., 2013).

2.5 Biomaterial (*Bone Graft*)

Bone graft merupakan bahan pengganti tulang yang digunakan dalam perbaikan fraktur yang kompleks. Bahan ini digunakan juga untuk perbaikan kerusakan (defek) tulang karena cacat bawaan, traumatic, operasi kanker tulang dan rekontruksi cranial atau fasial (Laurencin *et al.*, 2006). Syarat yang harus dipenuhi oleh *bone graft* adalah dapat diterima tubuh atau *biocompatible* dan menguntungkan bagi proses osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang (Gigante, 2010) :

a) Osteogenesis

Osteogenesis adalah kemampuan suatu *graft* untuk memproduksi tulang baru. Pada proses ini dipengaruhi oleh kehadiran sel-sel tulang di dalam *graft* tulang. Material osteogenik *graft* terdiri dari sel dengan kemampuan untuk membentuk tulang (sel osteoprogenitor) atau berpotensi untuk berdiferensiasi menjadi sel pembentuk tulang (dinduksi sel prekursor osteogenik/sel osteoprogenitor). Sel yang berpartisipasi dalam tahap awal proses persembuhan untuk menyatukan *graft* dengan tulang. Osteogenesis hanya ditemukan dalam properti autogenous tulang segar dan dalam sel sumsum tulang, meskipun penelitian mengenai sel dalam *graft* menunjukkan sangat sedikit yang ditransplantasikan dapat bertahan (Muschler *et al.*, 2001). *Soft callus* mulai terbentuk 2-3 minggu setelah cedera (Atala *et al.*, 2010). Pada fase *hard callus*, pembentukan tulang endokondral terus berlangsung untuk mencapai penyatuan tulang secara menyeluruh pada 4-8 minggu diikuti dengan fase remodelling tulang (Norton *et al.*, 2012).

b) Osteoinduksi

Osteoinduksi adalah suatu kondisi dimana tulang baru diwujudkan melalui rekrutmen sel induk inang yang aktif dari jaringan mesenchymal disekitarnya, yang berdiferensiasi menjadi osteoblas pembentuk tulang. Proses tersebut difasilitasi oleh adanya faktor pertumbuhan dalam pencangkakan, terutama *Bone Morphogenetic Protein* (BMP). (Greenwald *et al.*, 2001).

c) Osteokonduksi

Osteokonduksi merupakan sifat fisik dari *graft* dalam menjalankan fungsi sebagai *scaffold* untuk mendukung dalam persembuhan tulang. Osteokonduktif memungkinkan untuk pertumbuhan neovaskularisasi dan infiltrasi sel-sel prekursor osteogenik ke dalam ruang *graft*. Sifat osteokonduktif ditemukan di autograft dan allograft, demineralisasi tulang matrik, hidroksiapatit, kolagen dan kalsium fosfat (Kalfas, 2001).

2.5.1 Jenis Material Bone Graft

Material *bone graft* dibagi menjadi beberapa jenis:

a) *Autograft* merupakan implan tulang yang melibatkan pemanfaatan tulang yang diperoleh dari individu penerima implan tersebut. Tulang autologous yang paling banyak digunakan karena memiliki sedikit resiko dari penolakan implan karena implan berasal dari tubuh pasien itu sendiri (Wang, 2009).

b) *Allograft* adalah tulang yang diperoleh dari individu yang berbeda pada spesies yang sama. *Allograft* dapat diambil dari kadaver, donor hidup yang mempunyai hubungan darah, dan donor

hidup yang tidak mempunyai hubungan darah. Kerugian dari graft ini adalah kualitas dari graft tulang tergantung dari riwayat medis donor, dapat meningkatkan terjadinya penolakan system imun dan transmisi penyakit infeksi, seperti HIV dan hepatitis C, tidak bersifat osteogenik sehingga formasi tulang membutuhkan waktu yang lama dan sebagai hasilnya volume tulang yang terbentuk lebih sedikit dibandingkan dengan autograft (Peterson *et al.*, 2004).

c) *Xenograft* merupakan bahan pengganti tulang yang telah umum digunakan karena memiliki struktur yang relatif adekuat terhadap komponen yang digantikan dan tidak membahayakan jaringan yang tersisa. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa sifat fisik dan kimia bahan ini menyerupai tulang manusia, sehingga dapat berfungsi osteokonduktif. Di antara semua bahan pengganti tulang xenogenik, bahan pengganti dari tulang sapi (*bovine-derived bone replacement material*) telah diteliti secara ekstensif dan telah umum digunakan dalam keadaan klinik. *Xenograft* adalah tulang yang diambil dari spesies yang berbeda. *Bone graft* ini terkadang menimbulkan reaksi penolakan dari tubuh (Ratih *et al.*, 2003). Material *bone graft* juga dievaluasi berdasarkan potensi osteogenik, osteoinduktif, atau osteokonduktif. Sebagai alternatif lain pengganti tulang (*bone graft*) juga dapat disintesis dari berbagai biomaterial, seperti *hydroxyapatite*, trikalsiumfosfat, hidrogel, dll.

2.5.2 *Toothgraft*

Gigi adalah struktur komposit yang terdiri dari komponen inorganik meliputi kalsium fosfat dan komponen organik seperti

kolagen. Mineral gigi terdiri dari lima kalsium fosfat biologis, yaitu *hydroxyapatite*, *tricalcium phosphate* (TCP), *octacalcium phosphate* (OCP), *amorphous calcium phosphate* (ACP), dan *dicalcium phosphate dehydrate*. *Calcium phosphate* mampu meremodeling tulang ketika dilakukan proses pemberian *graft* dengan berinteraksi secara timbal balik (Young *et al.*, 2013).

Gigi dan tulang memiliki banyak kesamaan. Gigi, kartilago, saraf, dan tulang maksilofasial secara embrionik semuanya berasal dari *neural crest*. Komposisi kimia pada gigi, terutama dentin dan tulang, sangat serupa (Young *et al.*, 2013). Komposisi email gigi dewasa manusia terdiri atas 95-98 % berat bahan anorganik dan 1-2 % berat bahan organik, dan 4 % berat air. Bahan anorganik pada email terdiri dari 36,7 % kalsium, dan 17,4 % fosfat (Tarigan, 2013). Dentin terdiri atas 45-50 % kristal apatit anorganik, 30 % matriks organik, dan sekitar 25 % air (Summitt *et al.*, 2006). Sementum tersusun atas 70 % berat kering bahan anorganik, 21 % kolagen, dan 1 % komponen organik lainnya, sedangkan tulang alveolar mengandung 65 % substansi inorganik dan 35 % substansi organik (Young *et al.*, 2013; Hillson, 2014).

Bagian organik gigi terdiri dari dentin dan sementum yang termasuk kolagen tipe I, dan berbagai macam *growth factor* seperti *Bone Morphogenic Protein* (BMPs). Kolagen tipe I mengandung sekitar 90 % bagian organik jaringan, dengan sisanya *Non-Collagenous Protein* (NCP), biopolymers, lipid, citrate, lactate, dll. NCPs termasuk phosphophoryn, sialoprotein, glycoprotein, proteoglycan, osteopontin (OPN), osteocalcin, dentin matrix protein-

1, osterix, dan Cbfa1 (Runx2). Protein-protein ini diketahui sebagai pemicu resorpsi tulang dan proses degenerasi (Young *et al.*, 2013).

Berdasarkan potensial konduksi, osteokonduksi, dan osteogenesis melalui *growth factor* pada gigi dan gambaran histogenesis yang serupa antara tulang dan gigi, sebuah *graft* material dapat dikembangkan memanfaatkan substansi organik dan inorganik dari gigi yang diekstraksi. *Autogenous tooth bone graft* material (AutoBT; Korea Tooth Bank Co., Seoul, Korea) telah dikembangkan dari sebuah gigi yang diekstraksi. Gigi tanpa restorasi atau molar ketiga dapat diekstraksi dari pasien dengan proses fabrikasi dan demineralisasi, material AutoBT dibuat dari gigi yang diekstraksi. AutoBT tersebut dijadikan bahan graft untuk pasien yang sama ketika regenerasi tulang diperlukan dalam operasi dental. Baru-baru ini AutoBT secara luas digunakan di Klinik di Korea dan Jepang (Young *et al.*, 2013).

Toothgraft material terdiri dari 55 % substansi inorganik dan 45 % substansi organik. Diantara substansi inorganik, *hydroxyapatite* (HA) memiliki karakteristik dari kombinasi dan disosiasi kalsium dan fosfat seperti tulang. Substansi organik meliputi *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dan protein dengan kapasitas osteoinduksi seperti kolagen tipe I, sama dengan tulang alveolar itu sendiri (Park, 2012).

Material *toothgraft* dibagi dalam bentuk blok dan *powder*. Tipe blok memiliki kapasitas osteoinduksi melalui *blood wettability* dan kapasitas osteokonduksi melalui *space maintaining*. Selain itu, tipe ini juga memiliki kemampuan substitusi secara perlahan, dan kemampuan menjaga *space*. Tipe *powder* disuplai berdasarkan

ukuran partikel, porositas di antara powder, *blood wettability*, osteokonduksi, osteoinduksi, dan kemampuan substitusi secara perlahan (Park, 2012).

2.5.3 *Bovinegraft*

Bone graft yang berasal dari tulang sapi biasa disebut dengan *bovine bone*. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa bone graft dari jaringan tulang sapi dapat merangsang pertumbuhan matriks tulang dari defek tulang resipien. Tulang sapi yang digunakan tentunya harus berasal dari sapi sehat dan mendapatkan sertifikasi kesehatan dari dokter. Hewan herbivora itu juga harus terbebas dari virus penyebab penyakit menular, misalnya virus antraks. Oleh karena itu, tulang sapi yang akan digunakan sebagai bahan *xenograft* dipersiapkan khusus, bukan tulang sapi dari tempat pemotongan hewan. (Abbas, 2010; Makkunrai dkk., 2012).

Biomaterial *xenograft* seperti *bovine bone*, bertindak sebagai pemicu perbaikan dan pembawa faktor induksi tulang. Peran pembawa faktor induksi tulang dapat dilaksanakan oleh tulang *cancellous* atau kortikal sapi, baik makro maupun mikrogranular, *deproteinized* atau *demineralized*. Selain menyediakan struktur pendukung dan konduksi tulang, *bovine bone* juga dapat menyediakan kalsium dan fosfor dalam jumlah yang tinggi, yang penting untuk pembentukan jaringan tulang baru (Makkunrai dkk., 2012).

2.5.4 *Bone Graft sebagai Socket Preservation*

Bonegraft adalah material yang berfungsi untuk membantu rekonstruksi, menstabilkan struktur dan ikatan pada tulang serta

menstimulasi proses osteogenesis serta penyembuhan defek tulang yang besar.

Terdapat empat tujuan dan fungsi penggunaan *bone graft*, yaitu (Nguyen, 2012) :

1. Untuk mengisi defek yang disebabkan oleh adanya kista tulang, tumor atau penyebab yang lain.
2. Bagian penting dari artrodesis yaitu sebagai "jembatan".
3. Penyedia "*bone blocks*" untuk mengurangi pergerakan sendi.
4. Sebagai upaya untuk mengisi defek pada *non union*, *delayed union*, *malunion*, *postosteotomy*, dan mengupayakan *union* pada daerah yang *pseudoartrosis*.

Hidroksiapatit dalam material *bone graft* memiliki kemampuan osteokonduksi, dan osteoinduksi sehingga dapat menstimulasi osteogenesis. Hidroksiapatit mampu menginduksi dan menstimulasi sel-sel punca dan osteoblas untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru atau proses regenerasi tulang. Proses osteoinduksi berfungsi untuk menstimulasi osteogenesis, artinya *bonegraft* aktif menstimulasi dan menginduksi sel-sel punca dan osteoblas dari jaringan sekitar untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru (Cypher *et al.*, 1996). Pada fase reparasi penyembuhan tulang, *bonegraft* akan merangsang pertumbuhan dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang.

2.6 Pencabutan Gigi

Ekstraksi gigi atau pencabutan gigi merupakan tindakan pembedahan dengan tujuan penghilangan gigi dari soketnya (Wray *et al.*, 2003). Pencabutan gigi merupakan tindakan yang sangat kompleks yang melibatkan struktur tulang, jaringan lunak dalam rongga mulut serta keseluruhan bagian tubuh (Nina Rusmayanti, 2009).

Ekstraksi gigi dapat mengakibatkan terganggunya kontinuitas jaringan dan kerusakan jaringan yang disebut dengan luka. Penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi melibatkan proses penyembuhan pada jaringan lunak yaitu jaringan ikat dan epitel gingiva serta pada jaringan keras yaitu tulang alveolar (Lawler *et al.*, 2002).

Kriteria tercapainya proses penyembuhan luka pada soket bekas pencabutan diawali dengan pembentukan bekuan darah pada soket tersebut, karena kualitas dan kuantitas bentukan bekuan darah mempengaruhi kelanjutan proses penyembuhan seperti reepitelisasi, angiogenesis, deposisi matriks, dan *remodelling*, yang mendukung proses penyembuhan luka pada soket bekas pencabutan gigi. Kualitas dan kuantitas bekuan darah yang terbentuk pada soket bekas pencabutan di pengaruhi baik faktor lokal maupun sistemik (Pedersen dan Gordon W, 1996).

2.7 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Hewan kecil sering digunakan sebagai hewan percobaan karena mudah didapat, tidak mahal, mudah penanganannya dan cepat berkembang biak. Syarat hewan yang digunakan untuk penelitian

farmakologi harus jelas fisiologinya, bebas dari penyakit, didapat dari *breeding center* yang baik (Fatchiyah, 2013).

Klasifikasi tikus Wistar adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia	Subordo	: Myomorpha
Filum	: Chordata	Famili	: Muridae
Kelas	: Mamalia	Genus	: Rattus
Ordo	: Rodentia	Spesies	: Rattus norvegicus



Gambar 2.6 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)
(Al-Hajj *et al.*, 2016)

Spesies yang sering dipakai sebagai hewan model pada penelitian mengenai mamalia adalah *Rattus norvegicus* (Malole dan Pramono, 1989). Salah satu galur dari spesies *Rattus norvegicus* adalah tikus Wistar yang merupakan salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson, 2012). Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute (Philadelphia, PA) pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT® (Clause, 1998; Wistar Institute, 2014). Galur

ini terus dibiakkan hingga kini karena ideal sebagai hewan model untuk berbagai tujuan penelitian (River, 1998).

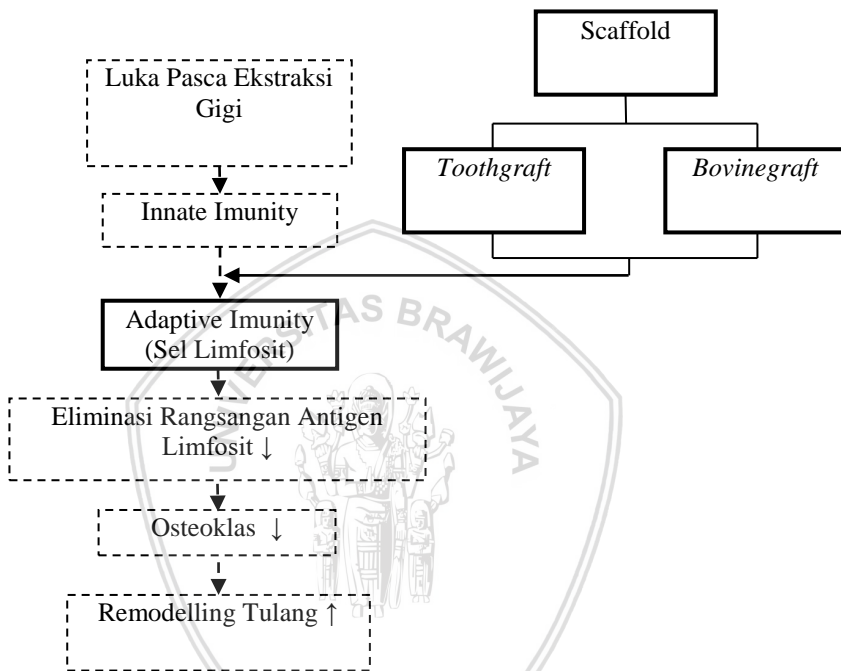
Rattus norvegicus memiliki beberapa keunggulan, yaitu pemeliharaan dan penanganan mudah, serta kemampuan reproduksi tinggi (Malole dan Pramono, 1989). Hewan ini dipakai dengan pertimbangan: (1) pola makan omnivora seperti manusia (Malole dan Pramono, 1989); (2) memiliki saluran pencernaan dengan tipe monogastrik seperti manusia (Hofstetter *et al.*, 2005); (3) kebutuhan nutrisi hampir menyamai manusia (Wolfensohn and Lloyd, 1998); serta (4) mudah di cekok dan tidak mengalami muntah karena tikus ini tidak memiliki kantung empedu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1989).

Pemilihan tikus putih jantan dikarenakan tikus jantan tidak memiliki fase estrus sehingga kondisi biologis tubuh lebih stabil dibanding tikus betina (Sihombing dan Raflizar, 2010). Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1998), tikus jantan dewasa memiliki berat badan 300-400 gr, rentang usia 2-3 tahun bahkan sampai 4 tahun dan memasuki usia dewasa sekitar 2-3 bulan.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

----->

Mempengaruhi

—————

Variabel yang diteliti

Variabel tidak diteliti

Luka pada soket gigi setelah pencabutan akan segera memproduksi respon imun yang diawali oleh sistem imunitas *innate* dengan terjadinya proses inflamasi dan fagositosis. Ditandai dengan adanya warna kemerahan dan peningkatan pembuluh darah. Bahan *toothgraft* dan *bovinegraft* sebagai *scaffold* akan dikenali oleh tubuh sebagai benda asing dan dilanjutkan dengan peningkatan sel limfosit yang terdapat dalam sistem imun *adaptive*.

Sel limfosit berperan dalam sistem imun *adaptive* memproduksi sel T dan sel B yang akan merespon terhadap bahan *graft* yang dikenali sebagai benda asing tersebut. Selanjutnya benda asing akan dieliminasi dan jumlah sel limfosit menurun sebagai mekanisme kontrol untuk menyesuaikan dengan jumlah yang dibutuhkan oleh tubuh.

Menurunnya sel limfosit diikuti dengan menurunnya jumlah osteoklas yang menunjukkan proses penyembuhan tulang. Hal ini menghasilkan proses remodeling tulang yang meningkat.

3.2 Hipotesis Penelitian

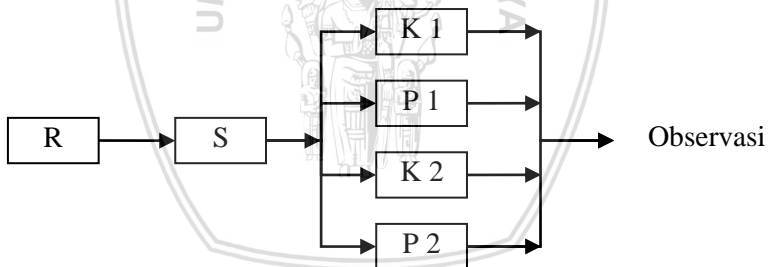
Jumlah sel limfosit pada *toothgraft* lebih sedikit dibanding pada *bovinegraft* di hari ke-14 dan ke-30

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Eksperimental laboratoris dilakukan dengan *Post Test Only Control Group* atau *Post Test Only Randomized Control Group Design* secara *in-vivo*. Jenis penelitian ini untuk mengetahui perbandingan jumlah sel limfosit antara *toothgraft* dan *bovinegraft* pasca perlukaan rahang pada tikus Wistar. Penelitian akan dibagi dalam 4 kelompok dengan 2 *time series*. Sampel dipilih secara *random*. Berikut merupakan desain penelitian: (Sugiyono, 2012).



Keterangan :

R = *Random*

S = *Sample*

K 1 = Kelompok kontrol (+) 1 diberi perlakuan berupa pemberian *bovinegraft* pada mandibula pasca perlukaan rahang selama 14 hari.

- P 1 = Kelompok perlakuan 1 diberi perlakuan berupa pemberian *toothgraft* pada mandibula pasca perlukaan rahang selama 14 hari
- K 2 = Kelompok kontrol (+) 2 diberi perlakuan berupa pemberian *bovinegraft* pada mandibula pasca perlukaan rahang selama 30 hari.
- P 2 = Kelompok perlakuan 2 diberi perlakuan berupa pemberian *toothgraft* pada mandibula pasca perlukaan rahang selama 30 hari.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar yang memenuhi kriteria.

4.2.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria inklusi sampel penelitian yang digunakan sebagai berikut:

1. Jenis kelamin jantan
2. Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif
3. Tikus Wistar usia 3 bulan
4. Berat badan tikus 120-140 gram
5. Tidak mengalami pengobatan atau paparan sebelumnya
6. Tikus Wistar tidak cacat

Kriteria eksklusi sampel sebagai berikut:

1. Jenis kelamin tikus betina
2. Tikus sakit atau mati selama penelitian berlangsung

3. Tikus Wistar usia lebih dari 3 bulan
4. Berat badan tikus tidak 120-140 gram
5. Terjadi infeksi pada soket gigi saat penelitian
6. Tikus Wistar dalam kondisi cacat (memiliki kelainan kongenital)

Besar sampel yang digunakan pada penelitian berdasarkan rumus Federer (1963), yaitu :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

n = jumlah pengulangan penelitian

t = jumlah kelompok

Penelitian ini memiliki jumlah kelompok yang akan diuji adalah 4 (t=4), oleh karena itu perhitungan menjadi :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Jadi dalam penelitian ini digunakan minimal 6 sampel untuk masing-masing kelompok. Penelitian ini menggunakan dua puluh empat ekor tikus Wistar dibagi dalam 4 kelompok dengan 2 *time series* yang akan di dekapitulasi dan diambil sampel rahang pada waktu yang sama.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bahan *toothgraft* dan *bovinegraft*.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah sel limfosit pasca pemberian bahan grafting.

4.3.3 Variabel Terkendali

- a. Hewan coba tikus Wistar jantan usia 3 bulan, berat badan 120-140 gr
- b. Perlakuan hewan coba
- c. Cara sintesis *toothgraft* dan *bovinegraft*
- d. Waktu pengamatan (hari ke-14 dan ke-30)
- e. Kesehatan hewan coba (gerakan yang aktif)
- f. Cara pemberian *graft* material
- g. Tempat pemeliharaan dan perawatan hewan coba (dalam sebuah kandang hewan yang berdinding kawat berukuran 35x25x20 cm³)
- h. Makanan pakan tikus Wistar (Rb11 = ransum standar untuk tikus dengan kandungan nutrisi per 100 g, protein (17.81 g), karbohidrat (58.35 g), serat kasar (10.42 g) dan energi (347.5 kal dan diberi minum air putih)
- i. Pengambilan preparat jaringan.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran UMM, Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya. Penelitian ini akan dilakukan selama bulan April-Mei 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

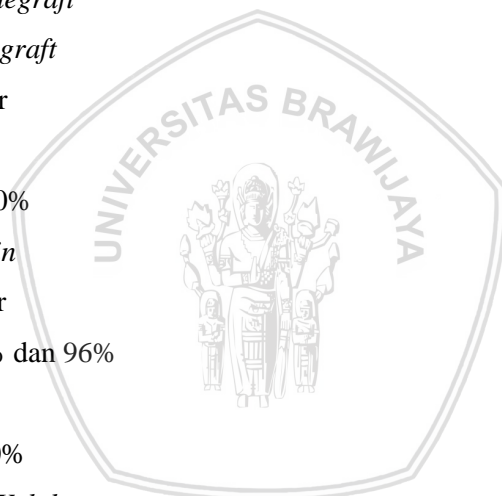
4.5.1 Alat Penelitian

1. Kandang hewan berupa plastik berukuran 90 cm x 60 cm x 60 cm. Diatasnya diberi tutup berupa jaring yang terbuat dari kawat
2. Feeding tube dan syringe
3. Gunting bedah, pinset bedah, *scalpel* no.11 dan *handle scalpel*
4. Jarum jahit, benang jahit *nylon*, dan *needle holder*
5. Tang cabut gigi
6. Pinset anatomis dan *rasparatorium*
7. Timbangan digital
8. Tempat makanan dan minuman
9. Masker dan sarung tangan
10. Kuas kecil
11. Gergaji kecil
12. *Timer*
13. *Microtom rotary*
14. *Waterbath*
15. Kaca obyek
16. *Deck glass Entellan*

17. Mikroskop cahaya
18. Mikroskop digital OLYMPUS

4.5.2 Bahan Penelitian

1. Tikus Wistar jantan usia 3 bulan, berat badan tikus Wistar 120-140 gr
2. Makanan dan minuman tikus Wistar
3. Bahan *bovinegraft*
4. Bahan *toothgraft*
5. Air mengalir
6. Kassa steril
7. Ketamine 10%
8. Blok *paraffin*
9. *Paraffin* cair
10. Alkohol 70% dan 96%
11. Eter 10%
12. Formalin 10%
13. *Aceton* dan *Xylol*
14. *Chloroform*
15. *Lithium carbonat* 0,5%
16. Aquadest
17. Balok es ukuran $\pm 10 \text{ cm} \times 7 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$
18. Lidokain ampul cum adrenalin 1 : 80.000
19. Larutan saline
20. Povidone iodine
21. Pewarna HE (*Haematoxylin* dan *Eosin*)



4.6 Definisi Operasional

1. *Toothgraft* adalah bahan graft dari gigi manusia yang telah diekstraksi dan tanpa restorasi. *Toothgraft* diproses di Laboratorium BATAN-Jakarta, dengan ukuran partikel 40 mess.
2. *Bovinegraft* adalah bahan graft dari tulang *cancelous* yang diambil dari *bovine* (tulang sapi). *Bovinegraft* didapatkan di Laboratorium BATAN-Jakarta, dengan ukuran partikel 40 mess.
3. Penghitungan sel imfosit adalah jumlah sel limfosit yang dihitung secara manual menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x per 5 lapang pandang yang didapat dari preparat soket alveolar tikus Wistar. Identifikasi sel limfosit dengan pewarnaan HE yaitu, memiliki inti bulat (*sferis*), berwarna ungu gelap yang hampir memenuhi seluruh sel.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Dua puluh empat ekor tikus Wistar jantan diseleksi sesuai kriteria sampel. Tikus Wistar mengalami penyesuaian selama 7 hari. Semua tikus Wistar dipelihara dalam kandang plastik dengan ukuran 35 cm x 25 cm x 20 cm³. Tikus Wistar diberi makanan dan minuman yang sama selama masa penyesuaian. Kandang terbuat dari plastik yang ditutup dengan anyaman kawat, beralaskan sekam. Kandang tersebut ditempatkan di ruangan yang terisolasi dengan ventilasi udara yang baik dan penerangan alami.

4.7.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok secara *random* dengan 2 *time series*. Kelompok K1 dan kelompok K2 (kontrol positif) terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *bovinegraft*. Kelompok P1 dan kelompok P2 terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *toothgraft*. Perbandingan jumlah sel limfosit dilihat pada hari ke-14 (Kelompok K1 dan K2) dan hari ke-30 (Kelompok P1 dan P2).

4.7.3 Operasi Hewan Coba Tikus Wistar

- a) Tikus Wistar dilakukan disinfeksi jaringan menggunakan alkohol 70%, setelah itu dianestesi umum dengan menyuntikkan ketamin 10% sebanyak 15-25 mg/kg BB secara intramuskuler. Setelah itu, diberikan suntikan anestesi local lidocain 1 cc untuk memperkuat anestesi.
- b) Gigi insisif mandibula tikus Wistar dicabut (Kelompok K1, P1, K2 dan P2)
- c) Soket alveolar mandibula di irigasi larutan saline dan perdarahan dihentikan dengan menggunakan kasa steril.

4.7.4 Perlakuan Kelompok Hewan Coba

Dua puluh empat ekor tikus Wistar dengan berat badan 120-140 gram dibagi ke dalam 4 kelompok dengan 2 *time series* sebagai berikut :

- a) Kelompok Kontrol (+) 1 (K1) terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *bovinegraft*. Setelah itu luka dijahit kembali.
- K1 hari ke-14 : Pada hari ke-14, 6 ekor tikus Wistar didekaputasi dan diambil sampel soket alveolar mandibula
- b) Kelompok Perlakuan 1 (P1) terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *toothgraft*. Setelah itu luka dijahit kembali
- P1 hari ke-14 : Pada hari ke-14, 6 ekor tikus Wistar didekaputasi dan diambil sampel soket alveolar mandibula.
- c) Kelompok Kontrol (+) 2 (K2) terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *bovinegraft*. Setelah itu luka dijahit kembali
- K2 hari ke-30 : Pada hari ke-30, 6 ekor tikus Wistar didekaputasi dan diambil sampel soket alveolar mandibula.
- d) Kelompok Perlakuan 2 (P2) terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *toothgraft*. Setelah itu luka dijahit kembali
- P2 hari ke-30 : Pada hari ke-30, 6 ekor tikus Wistar didekaputasi dan diambil sampel soket alveolar mandibula.

4.7.5 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-14 serta hari ke-30 untuk melihat perbandingan jumlah sel limfosit pada jaringan setelah pemberian bahan *graft*. Hewan coba dikorbankan dengan cara dimasukkan ke tabung kaca berisi kapas yang telah diberi *chlroform* hingga henti napas, kemudian dilakukan dislokasi pada leher tikus Wistar untuk memastikan tikus telah mati. Setelah itu, soket alveolar mandibula tikus Wistar diambil (dekaputasi) dengan dipotong menggunakan gergaji kecil. Rahang bawah kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi formalin 10 % untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Hewan coba yang sudah dikorbankan dikubur dalam tanah dengan baik dengan bantuan tenaga ahli dari laboratorium.

4.7.6 Pembuatan Sediaan Histologi

- a) Fiksasi jaringan dengan cara perendaman jaringan pada larutan formalin 10% selama 18-24 jam, kemudian jaringan dicuci dengan aquadest selama 15 menit.
- b) *Embedding* jaringan dengan cara jaringan dimasukkan pada cairan yaitu *acetone* selama 1 jam x 4, *Xylo*l selama ½ jam x 4, *paraffin* cair selama 1 jam x 3 dan penanaman jaringan tulang pada *paraffin* blok
- c) *Slicing* jaringan dengan cara blok yang sudah tertanam jaringan diletakkan pada balok es selama kurang lebih 15 menit kemudian blok ditempelkan pada *cakram microtom rotary* kemudian sayat jaringan tulang secara vertikal dengan

ukuran 4 mikron. Sayatan jaringan yang dibentuk pita diambil dengan menggunakan kuas kecil, kemudian letakkan pada *water bath* yang dengan suhu 36°C. Sayatan diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam.

- d) Pewarnaan *object glass* dengan cara *object glass* dimasukkan dalam *Xylol*, selama 15 menit x 3, alkohol 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Setelah itu *object glass* dimasukkan pada pewarna *Haematoxylin* selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. *Object glass* dimasukkan pada *Litium carbonat* selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya *object glass* dimasukkan pada pewarnaan *Eosin* selama 15 menit, alkohol 96% selama 15 menit x 3 dan *Xylol* selama 15 menit x 3. Dan yang terakhir, preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass Entellan*.

4.7.7 Penghitungan Jumlah Limfosit

- a) Sampel dengan replikasi 2 potongan jaringan daerah luka diletakkan dalam *object glass*.
- b) Sediaan preparat jaringan dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x untuk memastikan letak preparat yang akan dihitung.
- c) Sediaan preparat jaringan dilihat menggunakan mikroskop digital Olympus dengan perbesaran 400x kemudian dibuat foto preparat.
- d) Sampel pada sediaan dibagi menjadi 5 lapang pandang dengan ukuran yang sama.

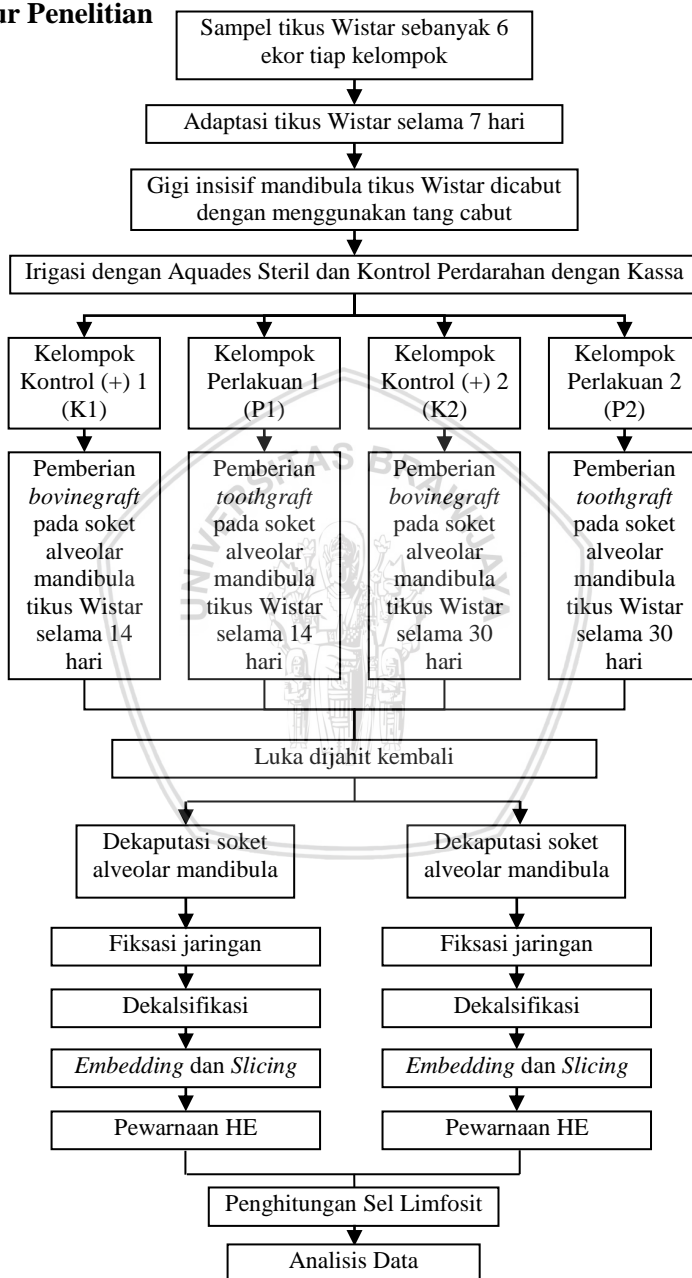
- e) Tiap potongan jaringan dihitung jumlah limfosit secara manual mulai dari pojok kiri bawah kemudian digeser ke kanan dan ditarik ke atas demikian seterusnya sehingga semua lapang pandang terbaca.
- f) Dihitung hasil rata-rata limfosit dari kelima potongan jaringan tersebut.



4.8 Analisis Data

Analisis ditentukan terhadap jumlah limfosit pada tikus Wistar. Proses analisis data yang terlebih dahulu dilakukan adalah uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas ragam (*Levene*). Untuk melihat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan digunakan uji statistik *One Way ANOVA*. Penelitian ini bermakna bila nilai $p < 0,05$ dan hipotesis yang menyatakan bahwa jumlah sel limfosit yang rendah pada *toothgraft* menunjukkan bahan graft yang dapat diterima dengan baik oleh tubuh. Namun apabila $p > 0,05$ berarti hipotesis tersebut ditolak. H_0 pada penelitian ini adalah tidak ada beda peningkatan limfosit antar kelompok perlakuan *toothgraft* dan *bovinegraft*, H_1 pada penelitian ini adalah terdapat beda peningkatan limfosit antar kelompok perlakuan *toothgraft* dan *bovinegraft*. Setelah itu dilakukan Uji *Post Hoc Tukey* (HSD) dan Uji Korelasi *Pearson* untuk menguji sejauh mana hubungan antara variabel tersebut.

4.9 Alur Penelitian



4.10 Etik Penelitian

Penelitian adalah kegiatan yang dilakukan berdasarkan kaidah dan metode ilmiah secara sistematis untuk memperoleh informasi, data, dan keterangan dari subjek terkait, dengan pemahaman teori dan pembuktian asumsi dan/atau hipotesis. Hasil yang didapat merupakan kesimpulan yang dapat diaplikasikan atau menjadi tambahan pengetahuan bagi kemajuan ilmu pengetahuan. Walaupun demikian, kegiatan penelitian harus tetap menghormati hak dan martabat subjek penelitian (PO KEPK, 2007).

Rustiawan dan Vanda (1990), menguraikan beberapa alasan mengapa hewan percobaan tetap diperlukan dalam penelitian khususnya di bidang kesehatan, pangan dan gizi antara lain: (1) keragaman dari subjek penelitian dapat diminimalisasi, (2) variabel penelitian lebih mudah dikontrol, (3) daur hidup relatif pendek sehingga dapat dilakukan penelitian yang bersifat multigenerasi, (4) pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan, (5) biaya relatif murah, (6) dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi, (7) mendapatkan informasi lebih mendalam dari penelitian yang dilakukan karena kita dapat membuat sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan, (8) memperoleh data maksimum untuk keperluan penelitian simulasi, dan (9) dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik dan toksisitas.

Beberapa prinsip-prinsip etik penelitian antara lain:

1. *Respect for Autonomy*

Prinsip ini terkait erat mengenai rasa hormat terhadap martabat manusia dengan segala karakteristik yang dimiliki memberikan

makna kebebasan bagi responden untuk menentukan keputusan sendiri tanpa ada paksaan dari siapapun (Beauchamp and Childress, 2001).

2. *Beneficence*

Prinsip *Beneficence* menekankan peneliti untuk melakukan penelitian yang memberikan manfaat bagi responden. Prinsip ini memberikan keuntungan dengan cara mencegah dan menjauhkan bahaya, membebaskan responden dari eksploitasi serta menyeimbangkan antara keuntungan dan risiko (Beauchamp and Childress, 2001).

3. *Non-Maleficence*

Prinsip ini menekankan peneliti untuk tidak melakukan tindakan yang menimbulkan kerugian untuk orang lain (Beauchamp and Childress, 2001).

4. *Anonymity*

Prinsip yang menekankan peneliti untuk menjamin kerahasiaan semua informasi pribadi maupun hasil penelitian yang telah dikumpulkan dari responden (Suryadi, 2007).

5. *Veracity*

Prinsip *Veracity* atau kejujuran menekankan peneliti untuk menyampaikan informasi yang benar. Peneliti memberikan informasi mengenai tujuan, manfaat dan prosedur penelitian (Suryadi, 2007).

6. *Justice*

Prinsip *Justice* atau keadilan menuntut peneliti mengutamakan kesamaan hak dan tidak melakukan diskriminasi terhadap responden penelitian (Beauchamp and Childress, 2001).

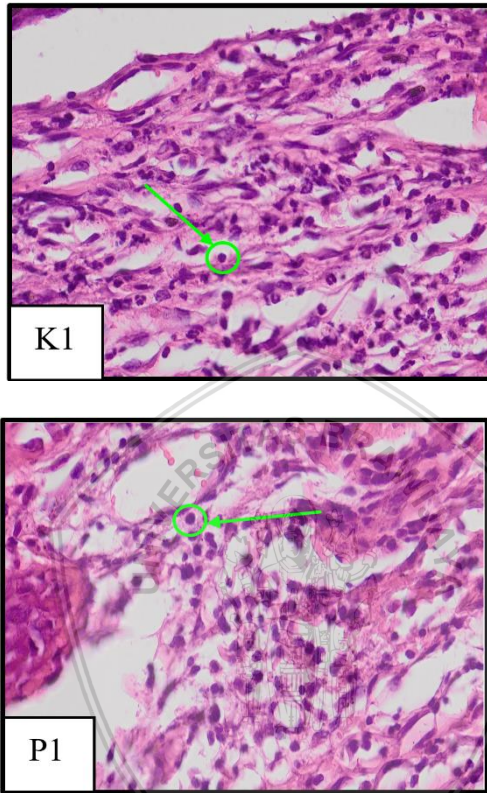
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

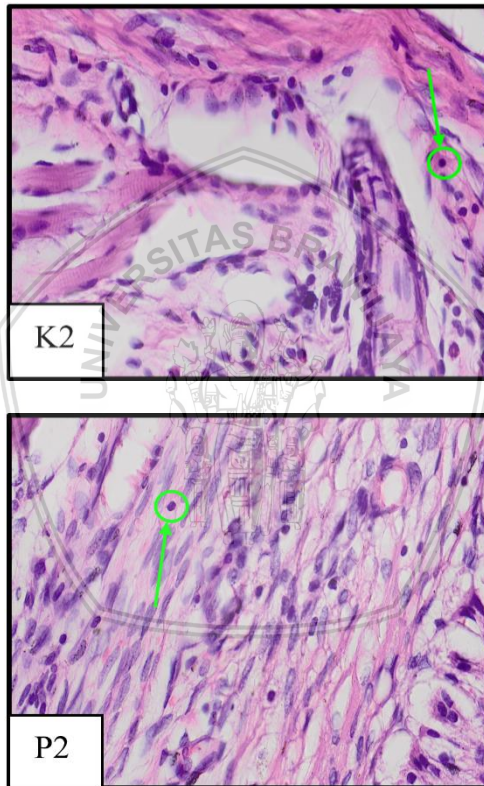
Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dilakukan dengan *Post Test Only Control Group* atau *Post Test Only Randomized Control Group Design* secara *in-vivo* pada tikus Wistar yang terdiri dari dua kelompok dengan dua *time series*. Kelompok Kontrol (+) 1 (K1) adalah tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif pertama mandibula dan diisi *bovinegraft*. Kelompok Perlakuan (P1) adalah tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *toothgraft*, kedua kelompok ini akan diambil sampel pada tikus yang dikorbankan pada hari ke-14, Kelompok Kontrol (+) 2 (K2) adalah tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *bovinegraft*, Kelompok Perlakuan 2 (P2) adalah tikus Wistar yang akan dicabut gigi insisif mandibula dan diisi *toothgraft*, kedua kelompok ini akan diambil sampel pada tikus yang dikorbankan pada hari ke-30.

Pada hari ke-14 dan ke-30 dilakukan pengorbanan pada tikus dan dilanjutkan dengan pembedahan mandibula tikus untuk mengambil jaringan tulang mandibula. Jasad tikus dikubur dalam tanah setelah pembedahan mandibula selesai dilakukan. Pembuatan preparat menggunakan pewarnaan *Hoematoxylin-Eosin* (HE), lalu dilakukan pengamatan dan penghitungan jumlah sel limfosit secara manual pada mikroskop digital OLYMPUS dengan perbesaran mikroskop 400 kali.



Gambar 5.1 Limfosit (ditunjuk panah warna hijau) pada potongan tulang mandibula tikus Wistar hari ke-14 dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x. (K1) Pasca aplikasi *bovinegraft* dengan pewarnaan HE hari ke-14, (P1) Pasca aplikasi *toothgraft* dengan pewarnaan HE hari ke-14.

Berdasarkan gambar 5.1 pada potongan tulang mandibula tikus Wistar didapatkan sel limfosit Kelompok Perlakuan (P1) pada hari ke-14 memiliki jumlah lebih sedikit dibanding Kelompok Perlakuan (K1) pada hari ke-14.



Gambar 5.2 Limfosit (ditunjuk panah warna hijau) pada potongan tulang mandibula tikus Wistar hari ke-30 dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x. (K2) Pasca aplikasi *bovinegraft* dengan pewarnaan HE hari ke-30, (P2) Pasca aplikasi *toothgraft* dengan pewarnaan HE hari ke-30.

Berdasarkan gambar 5.2 pada potongan tulang mandibula tikus Wistar didapatkan sel limfosit Kelompok Perlakuan (P2) pada hari ke-30 memiliki jumlah lebih sedikit dibanding Kelompok Perlakuan (K2) pada hari ke-30. Gambaran limfosit pada hari ke-30 menunjukkan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan hari ke-14 sehingga dapat terlihat berupa penurunan jumlah limfosit.

Untuk analisis data hasil penghitungan limfosit ditulis dengan format mean \pm standar deviasi.

Tabel 5.1 Jumlah Rerata Sel Limfosit per Preparat

Kelompok Perlakuan	Hari ke-14	Hari ke-30
Bovinegraft	24,8	19,8
	24,2	19,2
	25,6	19,8
	23,6	19,4
	24,4	19,6
	23,4	19
Toothgraft	22	16,6
	22,2	16
	23,2	16,2
	21,6	16,4
	22,4	16,4
	21,8	16,8

Berdasarkan tabel 5.1 :

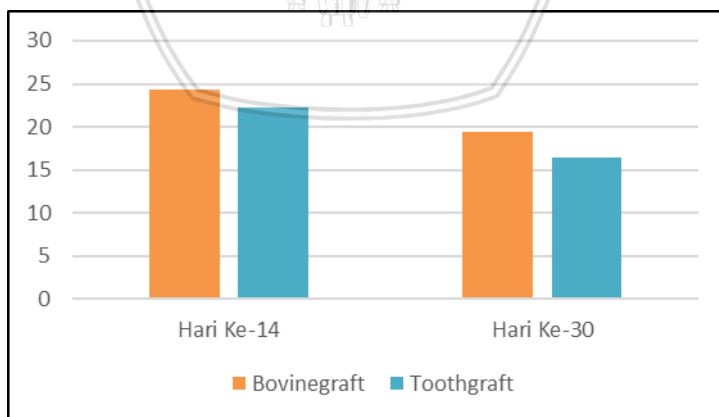
Jumlah rerata *bovinegraft* dan *toothgraft* pada keenam preparat lebih banyak pada hari ke-14 dibanding hari ke-30.

Tabel 5.2 Hasil Penghitungan Rerata Jumlah Limfosit Kelompok Perlakuan Bovinegraft dan Toothgraft pada hari ke-14 dan ke-30

Kelompok Perlakuan	Pengamatan Hari			
	Ke-14		Ke-30	
	Rerata jumlah (per lapang pandang)	Standar Deviasi	Rerata jumlah (per lapang pandang)	Standar Deviasi
Bovinegraft	24,3333	0,80664	19,4667	0,32660
Toothgraft	22,2000	0,56569	16,4000	0,28284

Berdasarkan tabel 5.2:

Rerata jumlah limfosit per lapang pandang pada *bovinegraft* hari ke-14 lebih banyak dibanding *bovinegraft* hari ke-30, sedangkan rerata jumlah sel limfosit per lapang pandang pada *toothgraft* hari ke-30 lebih sedikit dibanding *toothgraft* hari ke-14.



Gambar 5.3 Diagram Rata-Rata Jumlah Limfosit pada Hari ke-14 dan ke-30

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas Data

Pada penelitian ini, pengujian normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah data 24 ($n < 50$). Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil penghitungan $p > 0,05$ maka distribusi data normal. Didapatkan hasil pengujian normalitas sebagai berikut :

Tabel 5.3 Uji Normalitas Data Sel Limfosit

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Limfosit	0,928	24	0,086

Berdasarkan pada tabel 5.3, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,086. Jika nilai signifikansi dibandingkan dengan $p = 0.05$ maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), sehingga dari pengujian ini dapat diketahui bahwa uji normalitas telah terpenuhi dan data berdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas Ragam

Tabel 5.4 Uji Homogenitas Ragam Sel Limfosit

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
1,867	3	20	0,168

Berdasarkan pada tabel 5.4, didapatkan nilai signifikansi *Levene statistic* sebesar 1,867 dengan nilai signifikansi sebesar 0,168. Jika nilai signifikansi dibandingkan dengan $p=0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar daripada 0,05 ($p>0,05$), sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian bersifat homogen.

5.2.3 Uji *One Way ANOVA*

Uji *One Way ANOVA* bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah sel limfosit masing-masing kelompok. Syarat dari uji *One Way ANOVA* adalah data yang diambil dari sampel acak berdistribusi normal dan memiliki ragam yang homogen dimana data hasil penelitian dikatakan memiliki perbedaan yang bermakna apabila nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 ($p<0,05$). Berikut hasil penghitungan uji *One Way ANOVA*:

Tabel 5.5 Uji *One Way ANOVA*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	212,533	3	70,844	244,854	0,000
Within Groups	5,787	20	0,289		
Total	218,320	23			

Berdasarkan pada tabel 5.5, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000. Nilai signifikansi yang didapatkan dari proses penghitungan lebih kecil dari 0,05 ($p<0,05$). Jadi, H_0 ditolak dan H_1

diterima yang berarti terdapat perbedaan rata-rata jumlah limfosit antar kelompok pada hari ke-14 dan hari ke-30.

5.2.4 Uji *Post Hoc* Tukey (HSD)

Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji *Tukey HSD* yang bertujuan untuk melihat kelompok mana saja yang berbeda diantara kelompok yang lain. Data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$. Hasil dari uji *Post Hoc* didapatkan sebagai berikut:

Tabel 5.6 Uji *Post Hoc* Tukey (HSD)

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Bovinegraft 14	Toothgraft 14	2,13333*	0,31056	0,000	1,2641	3,0026
	Bovinegraft 30	4,86667*	0,31056	0,000	3,9974	5,7359
	Toothgraft 30	7,93333*	0,31056	0,000	7,0641	8,8026
Toothgraft 14	Bovinegraft 14	-2,13333*	0,31056	0,000	-3,0026	-1,2641
	Bovinegraft 30	2,73333*	0,31056	0,000	1,8641	3,6026
	Toothgraft 30	5,80000*	0,31056	0,000	4,9308	6,6692
Bovinegraft 30	Bovinegraft 14	-4,86667*	0,31056	0,000	-5,7359	-3,9974
	Toothgraft 14	-2,73333*	0,31056	0,000	-3,6026	-1,8641
	Toothgraft 30	3,06667*	0,31056	0,000	2,1974	3,9359
Toothgraft 30	Bovinegraft 14	-7,93333*	0,31056	0,000	-8,8026	-7,0641
	Toothgraft 14	-5,80000*	0,31056	0,000	-6,6692	-4,9308
	Bovinegraft 30	-3,06667*	0,31056	0,000	-3,9359	-2,1974

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey* tersebut dapat dijelaskan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan *bovinegraft* dan *toothgraft* pada hari ke-14 dan hari ke-30. Pada *bovinegraft* hari ke-14 dan *toothgraft* hari ke-14 serta pada *bovinegraft* hari ke-30 dan *toothgraft* hari ke-30 menunjukkan nilai yang signifikan ($p = 0,000$). Perbedaan yang signifikan ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Tanda positif maupun negatif pada *Mean Difference* menunjukkan selisih angka antara kelompok (I) terhadap kelompok (J). *Lower Bound* dan *Upper Bound* merupakan rata-rata terendah dan rata-rata tertinggi yang ada dalam perbandingan antara kelompok (I) terhadap kelompok (J).

5.2.5 Uji Korelasi *Pearson*

Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji kekuatan dan arah hubungan antara dua variabel dengan skala data interval atau rasio. Uji korelasi *Pearson* digunakan apabila data berdistribusi normal, dan jika distribusi tidak normal dapat menggunakan uji korelasi *Spearman*, karena hasil data analisis berdistribusi normal, maka menggunakan uji korelasi *Pearson*. Data dikatakan memiliki hubungan yang signifikan apabila nilai signifikansi ($p < 0,05$) dan memiliki hubungan yang berbanding lurus apabila nilai korelasi bertanda positif dan berbanding terbalik apabila bertanda negatif. Hasil dari uji korelasi *pearson* didapatkan sebagai berikut:

Tabel 5.7 Uji Korelasi Pearson

		Kelompok	Limfosit
Kelompok	Pearson Correlation	1	-0,984**
	Sig. (2-tailed)		0,000
	N	24	24
Limfosit	Pearson Correlation	-0,984**	1
	Sig. (2-tailed)	0,000	
	N	24	24

Didapatkan nilai Sig. (2-tailed) dari uji Korelasi Pearson adalah sebesar 0,000, lebih kecil daripada 0,05 ($p < 0,05$) dan nilai *Pearson r* -0,984. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara kelompok sampel dengan jumlah limfosit karena hasil yang mendekati angka 1 dan memiliki tanda negatif yang berarti korelasi yang terjadi memiliki hubungan yang berbanding terbalik, yaitu semakin lama waktu *bovinegraft* dan *toothgraft* diberikan pasca aplikasi semakin kecil pula jumlah sel limfosit.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk menganalisis efek aplikasi antara *toothgraft* dan *bovinegraft* dalam proses penyembuhan pasca aplikasi pada tikus Wistar dilihat dari perbandingan jumlah sel limfosit. Penghitungan limfosit dilakukan pasca aplikasi bahan *toothgraft* dan *bovinegraft* pada hari ke-14 dan ke-30.

Pengaplikasian bahan *toothgraft* dan *bovinegraft* setelah dilakukan perlakuan pencabutan gigi insisif mandibula tikus Wistar sebagai upaya perbaikan tulang (regeneratif) . Cypher *et al.*, (1996) mengatakan bahwa hidroksiapatit pada *bonegraft* memiliki kemampuan osteokonduksi, dan osteoinduksi sehingga dapat menstimulasi osteogenesis, artinya *bonegraft* (*toothgraft* dan *bovinegraft*) aktif menstimulasi dan menginduksi sel-sel punca dan osteoblas dari jaringan sekitar untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru. Menurut Hengky (2012), hidroksiapatit dalam *bonegraft* menjadi media yang baik bagi sel osteoprogenitor melakukan proses proliferasi dan diferensiasi, serta berperan dalam proses mineralisasi tulang.

Hidroksiapatit dapat ditemukan pada tulang dan gigi manusia. *Calcium phosphate* yang terdapat dalam gigi mampu meremodeling tulang ketika dilakukan proses pemberian *graft* dengan berinteraksi secara timbal balik ((Purnama, 2006; Young *et al.*, 2013). Senyawa ini adalah salah satu dari sedikit material yang diklasifikasikan

sebagai bioaktif material. Material tersebut dapat mendukung pertumbuhan tulang tanpa adanya penghancuran ketika digunakan untuk implantasi pada manusia (Reddy and Swamy, 2010).

Bahan *toothgraft* dan *bovinegraft* yang telah diaplikasikan akan diterima oleh tubuh dan menimbulkan respon imun terhadap tubuh serta sekaligus melewati beberapa fase penyembuhan yang cukup kompleks (Guyton dan Hall, 2008). Menurut Sherwood (2011), tubuh akan memproduksi limfosit sebagai *adaptive immunity* untuk merespon terhadap benda asing tersebut dan mengontol agar sistem imunitas tersebut tidak diproduksi berlebihan.

Bovinegraft termasuk sebagai bahan *xenograft* yang merupakan bahan tulang pengganti berasal dari tulang sapi dapat menimbulkan reaksi penolakan (Ratih *et al.*, 2003). Hal itu yang menyebabkan tingginya jumlah sel limfosit pada *bovinegraft* dibandingkan *toothgraft*, sedangkan *toothgraft* berasal dari ekstraksi gigi tanpa restorasi yang telah melalui proses fabrikasi dan demineralisasi yang memiliki substansi lebih mirip dengan tulang manusia (Young *et al.*, 2013).

Toothgraft didapatkan dari individu lain namun masih dalam satu spesies yang sama, maka *toothgraft* digolongkan sebagai *allograft*. Hasil penelitian Ronald dan Heri (2014) menyatakan bahwa bahan *allograft* tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam penyembuhan tulang dibandingkan dengan *autograft* sebagai standar optimum bahan pengganti tulang untuk individu itu sendiri. Dapat disimpulkan bahwa *allograft* atau dalam penelitian ini adalah

toothgraft memiliki kemampuan yang hampir sama baiknya dengan bahan pengganti tulang *autograft*.

Kandungan yang terdapat didalam bahan *toothgraft* memiliki kemiripan dengan komposisi yang terdapat pada tulang alveolar. *Toothgraft* material terdiri dari 55 % substansi inorganik dan 45 % substansi organik. Diantara substansi inorganik, *hydroxyapatite* (HA) memiliki karakteristik dari kombinasi dan disosiasi kalsium dan fosfat seperti tulang. Substansi organik meliputi *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dan protein dengan kapasitas osteoinduksi seperti kolagen tipe I, sama dengan tulang alveolar itu sendiri (Park, 2012). Menurut Baldini *et al.* (2011), kandungan senyawa yang terdapat di dalam *bovine graft* kurang lebih adalah gelatin 11,1%, kalsium fosfat 57,55%, kalsium karbonat 3,85%, magnesium fosfat 2,05%, dan sodium karbonat 3,45%. Berdasarkan teori tersebut dapat dikatakan bahwa bahan *toothgraft* memiliki kemiripan kandungan yang lebih banyak dengan tulang alveolar. Gigi dan tulang memiliki banyak kesamaan, sehingga komposisi kimia pada gigi, terutama dentin dengan tulang sangatlah serupa (Young *et al.*, 2013).

Pada hasil penelitian yang dilakukan pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pasca aplikasi hari ke-14 dibanding hari ke-30 menunjukkan bahwa sel limfosit terjadi penurunan terhadap bahan *bovinegraft* maupun bahan *toothgraft*. Hal ini sejalan seperti dijelaskan dalam penelitian Eva dkk. (2014). Didapatkan hasil bahwa semakin lama hari perlakuan jumlah limfosit semakin mengalami penurunan. Hal tersebut dapat terjadi karena limfosit tidak lagi

mengalami peradangan sehingga proses pembentukan limfosit tidak terjadi lagi dan menyesuaikan dengan kebutuhan limfosit yang diperlukan oleh tubuh (Eva dkk., 2014).

Penelitian ini terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, salah satunya yaitu ukuran partikel bahan graft yang kemungkinan dapat mempengaruhi mekanisme dari respon imun penyembuhan tulang. Suryadi (2011) menjelaskan bahwa salah satu faktor yang berpengaruh terhadap osteokonduktifitas adalah ukuran struktur kristalit.

Selain itu jenis hewan coba dengan rentang usia yang relatif pendek juga dapat memberikan pengaruh, karena akan lebih sulit bertahan dalam penelitian yang bersifat longitudinal (Pudyani, 2015). Faktor-faktor tersebut kemungkinan dapat mempengaruhi dalam proses penelitian dan penghitungan sel limfosit.

Secara garis besar hal tersebut dapat diantisipasi sehingga tidak memberikan dampak yang signifikan hingga mempengaruhi dalam proses penelitian penghitungan sel limfosit pada bahan *toothgraft* dan *bovinegraft*. Dalam penelitian kedepan faktor-faktor yang mungkin berpengaruh tersebut dapat dijadikan pertimbangan mengenai ukuran partikel *graft* yang digunakan serta hewan coba yang memiliki rentang usia yang lebih panjang.

Penelitian Creemers *et al.* (2002) terhadap uji *rejection allograft* menunjukkan hasil bahwa tingkat *minimal rejection* sebagai *diagnostic marker* yang dilakukan diperoleh jumlah limfosit yang rendah dibanding kelompok yang lain. Penelitian tersebut

menunjukkan adanya keterkaitan antara tingkat *rejection* dengan jumlah sel limfosit.

Berdasarkan hasil penelitian dan beberapa uji yang telah peneliti lakukan serta beberapa teori yang mendukung penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bahan *toothgraft* memiliki *minim rejection* yang lebih baik dibanding bahan *bovinegraft* dilihat dari jumlah sel limfosit pada soket alveolar mandibula tikus Wistar. Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun pada Bab 3 sejalan dengan hasil penelitian, sehingga dapat dikatakan hipotesis penelitian dapat diterima.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai perbandingan jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* pasca pencabutan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *toothgraft* pasca pencabutan lebih rendah pada hari ke-30 dibandingkan hari ke-14.
2. Jumlah sel limfosit pada soket alveolar tikus Wistar dengan aplikasi *bovinegraft* pasca pencabutan lebih rendah pada hari ke-30 dibandingkan hari ke-14.
3. Bahan *toothgraft* lebih rendah jumlah sel limfositnya dibandingkan bahan *bovinegraft* baik pada hari ke-14 maupun ke-30.

7.2 Saran

Berdasarkan data hasil yang terdapat dalam penelitian ini, maka beberapa hal saran yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini masih menggunakan hewan coba dalam tingkatan yang rendah, maka pada penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan penelitian mengenai perbandingan jumlah sel limfosit pasca aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft*

pada tingkatan hewan coba yang lebih tinggi, sehingga memperoleh data dan hasil yang semakin mendekati pada pengobatan manusia.

2. Penelitian lanjutan mengenai perbandingan aplikasi *toothgraft* dan *bovinegraft* terhadap kepadatan tulang pada proses *remodelling* soket alveolar tikus Wistar pasca pencabutan menggunakan bahan *graft* dengan ukuran partikel yang bervariasi.
3. Penelitian lanjutan perlu mempertimbangkan ukuran dan lokasi pengaplikasian bahan *graft* pada hewan coba, sehingga didapatkan hasil yang lebih akurat.
4. Hasil penelitian ini dapat digunakan dan dimanfaatkan sebagai referensi dalam pengembangan penelitian yang berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. 2010. Is Bio-Oss® an Osteoconductive Material When Used as an Onlay Graft in Combination with a Resorbable Membrane? A Prospective Experiment in a Rabbit Model. A thesis McGill University. Canada.
- Akers, R.M., Denbow, D.M. 2008. *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. Oxford (GB): Blackwell.
- Al-Hajj, N.Q.M., Algabr, M., Sharif, H.R., Aboshora, W., Wang, H. 2016. In Vitro and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2016, Vol. 4, No. 7, 461-470
- Anderson, A.J., Beck, K.D., Nguyen, H.X, Galvan, M.D, Salazar, D.L, Woodruff, T.M. 2010. Quantitative Analysis of Cellular Inflammation After Traumatic Spinal Cord Injury: Evidence for A Multiphasic Inflammatory Response in the Acute to Chronic Environment. *Brain A Journal of Neurology*, 133 433-447.
- Atala, A., Lanza, R., Thomson, J.A., Nerem, R. 2010. *Principles of Regenerative Medicine* (2 ed.). New York: Elsevier.
- Baldini, M., DeSanctis, M., Ferrari, M. 2011. *Deproteinized bovine bone in periodontal and implant surgery*. *Dent Mater*; 27:61-70
- Baron, R. 2006. *Anatomy and Ultrastructure of Bone Histogenesis, Growth and Remodeling*.

- Bartold, P.M., Shi, S., Gronthos, S. 2006. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol* ; 40: 164-72.
- Beauchamp, T.L., Childress, J.F. 2001. *The Principle of Biomedical Ethics*, ed 3rd. New York: Oxford University Press.
- Bellanti, J.A. 1993. *Imunologi III*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Brandao, A.C., Luis, G.B., Arthur, B.N., Marcio, F.M.G., Sergio, L.S.S., Mario, T., Luis, A.S. 2002. Histomorphometric Analysis of Rat Alveolar Wound Healing with Hydroxyapatite Alone or Associated to BMPs. *Braz Dent J* 13(3):147-154
- Canhao, H., Fonseca, J.E., Queiroz, M.V. 2005. Epidemiologia da Osteoporose. Mecanismos de Remodelacao Ossea e Factores Protectors do Osso. *Acta Reumatologica Portuguesa* (30): 225-240
- Clause, B.T. 1998. *The Wistar Institute Archives: Rats (Not Mice) and History*. Mendel Newsletter 7. Hannover: American Philosophical Society Library. <http://www.amphilsoc.org/mendel/1998>. Diakses 22 Agustus 2017.
- Creemers, P., Brink, J., Wainwright, H., Moore, K., Shephard, E., Kahn, D. 2002. Evaluation of Peripheral Blood CD4 and CD8 Lymphocyte Subsets, CD69 Expression and Histologic Rejection Grade as Diagnostic Markers for The Presence of Cardiac Allograft Rejection. *Transplant Immunology* ; 10: 285 – 292

- Cypher, T.J., Grossman, J.P. 1996. Biological principles of bone graft healing. *J Foot Ankle Surg.* 35:413-17
- Dellman, H.D, Brown, E.M. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Ed ke-3. R. Hartono, Penerjemah. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Depster, W.D. 2001. Bone Builders: Discoveries Behind Preventing and Treating Osteoporosis. Breaktrough Bioscience. Available <http://www.faseb.org/opar>.
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. 2014. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- Dorland, W.A.N. 2010. Kamus Kedokteran Dorland. Edisi 31. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Eva, E., Noor, C., Dina, R. 2014. Pengaruh Pemberian Gel Kuersetin Terhadap Jumlah Neutrofil dan Limfosit dalam Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Jantan Galur Wistar. Prodi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat. *Jurnal Pharmascience*, Vol 1, No. 2, Oktober 2014, hal: 38 - 45
- Fatchiyah. 2013. Laik Ethik dengan Hewan Coba. Malang: Universitas Brawijaya. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id> (online) diakses 15 September 2017.
- Fragiskos. 2007. Oral surgery. Berlin : Verlag Berlin Heidelberg; hal. 1-28
- Garagiola, U. 2006. Biointegration of Bone Grafting Materials and Osseointegrated Implants in Oral and Maxilofacial Surgery. 2006. PhD Thesis. Semmelweis University.

- Gigante, A., Cappela, M., Manzotti, S., Cecconi, S. 2010. Osteoinduction Properties of Different Growth Factor on Cells From Non-Union Patien: In Vitro Study for Clinical Application. Volume 24(1): 51-62
- Greenwald, A.S., Boden, S.D., Goldberg, V.M., Khan, Y., Laurencin, C.T., Rosier, R.N. 2001. Bone-Graft Substitutes: Facts, Fictions, and Applications. J. Bone Jt. Surg., 83, pp. S98-S103
- Guo, S., Dipietro. 2010. Factors affecting wound healing. J Dent Res; 89(3): 219-29.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 12. Jakarta: EGC, hal. 482-6.
- Hengky, B. A. 2012. Peran Hidroksiapatit Sebagai Material Bone Graft dalam Menstimulasi Kepadatan Kolagen Tipe L pada Proses Penyembuhan Tulang. Stomatognathic (J.K.G Unej) Vol. 9 No. 1 Hal 16-18.
- Hillson, S. 2014. *Tooth development in human evolution and bioarchaeology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hofstetter, J., Suckow, M.A., Hickman, D.L. 2005. Morphophysiology. Di dalam: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editor. The Laboratory Rat. Second edition. USA: Elsevier.
- Iasella, J.M., Greenwell, H., Miller, R.L., Hill, M., Drisko, C., Bohra, A.A., Scheetz, J.P. 2003. Ridge Preservation with Freeze-Dried Bone Allograft and a Collagen Membrane Compared to

- Extraction Alone for Implant Site Development: A Clinical and Histologic Study in Humans, J. Periodontology, 74:990-999.
- Johnson M. 2012. Laboratory Mice and Rats. Mater Methods 2:113. <http://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>. Diakses 20 Agustus 2017.
- Junqueira, L., Carneiro, J., Kelley, R. 2013. Histologi Dasar. Edisi 13. Jakarta: EGC.
- Kalfas, I.H. 2001. Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus 10(4). Cleveland, Ohio: Department of Neurosurgery, Section of Spinal Surgery, Cleveland Clinic Foundation.
- Keast, D., Orsted, H. 2007. The Basic Principles of Wound Healing
- Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbangkes Pedoman Operasional Komisi Etik Penelitian Kesehatan (PO KEPK). 2007. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kubilius, M., Kubilius, R., Gleiznys, A. 2012. The Preservation Of Alveolar Bone Ridge During Tooth Extraction. Stomatologija
- Laurencin, C., Khan, Y., El-Amin, S.F. 2006. Bone Graft Substitutes. Expert Rev Med Devices
- Lawler, W., Ahmed, A., Hume, J. 2002. Essential pathologi for dental student. Disadur Djaya A. Buku pintar patologi untuk kedokteran gigi. Jakarta: EGC.
- Leeson, T.S., Leeson, C.R., Paparo, A.A. 1996. Buku Ajar Histology. Edisi ke 5. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lopes, J., Fonseca, J., Canhao, H. 2007. Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol Port; 32(2): 103-10.

- Mackie, E.J. 2003. Osteoblas: Novel Roles in Orchestration of Skeletal Architecture. *Intj Biochem Cell Biol* (36): 1-8
- Makkunrai, E.K.E., Harly, P., Endang, P. 2012. Kecepatan Adsorpsi Bovine Bone Ukuran 150-355 μm Terhadap Darah (Golongan O). *Journal Of Prosthodontic* Vol. 3. No. 2.
- Malole, M.B.M., Pramono, U.S.C. 1989. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mansjoer, A. 2000. Kapita Selektta Kedokteran, Edisi III jilid II, Jakarta: Media Aesculapius, FKUI.
- Marques, S.M.M.D., J. Carmo, M.D., Miguel, B.M.D., Pedro, P.M.M.D. 2016. Simultaneous Presentation of Idiopathic Duct-Centric Pancreatitis and Ulcerative Colitis. *ACG Case Rep J* 2016;3(4):e131.
- Mills, S.E. 2007. *Histology for Pathology*. 3rd Eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Monologas, S.C. 2000. Birth and Death of Bone Celle: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for The Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Endocrin Reviews* 21(2): 115-137.
- Murray, R. K. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. USA. Mac Graw Hill Company. p 28-101.
- Muschler, G.F., Nitto, H., Boehm, C.A., Easley, K.A. 2001. Age- and Gender-Related Changes in the Cellularity of Human Bone Marrow and The Prevalence Of Osteoblastic Progenitors *J Orthop Res*, 19, pp. 117-125

- Naoyuki, T., Kazuhiro, M., Akihiro, I., Shunsuke, U., Yasuhiro, K. 2011. Regulatory Mechanism of Osteoclastogenesis by RANKL and Wnt Signals. *Frontiers in Bioscience* 16 (1): 21
- Newman M.G., Takei H.H., Carranza F.A. 2015. *Caranza: Clinical Periodontology 12th Edition*. Philadelphia: W.B. Saundres.
- Nguyen, N.H. 2012. Basic Knowledge of Bone grafting, Bone grafting. Pediatric Orthopaedic Department of Dong Da District, Ha Noi.
- Nicholas, F. W. 2004. Pengantar Genetika Veteriner. Pustaka Wira Usaha Muda, Bogor.
- Nina Rusmayanti. Thalasemia dan ekstraksi gigi. 2009. Available from: [URL:http://www.thalasemia-dan-ekstraksi-gigi.html](http://www.thalasemia-dan-ekstraksi-gigi.html). Accessed: 19 Desember 2017
- Norton, J., Barie, P. S., Bollinger, R. R., Chang, A. E., Lowry, S., Mulvihill, S. J. 2012. *Surgery: Basic Science and Clinical Evidence*. New York: Springer-Verlag.
- Nugroho, T.S. 2005. Pengaruh Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % Terhadap Kuantitas Angiogenesis Tikus Wistar Pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Hari Ke-5. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Park S.M., Um I.W., Kim Y.K., Kim K.W. 2012. Clinical Application of Auto-Tooth Bone Graft Material. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* , 38 :2-8

- Paulsen, F.D. 2000. Sense Organs. in Histology and Cell Biology. fourth edition. New York: Lange Medical Book McGraw-Hill. 323-326.
- Pedersen, Gordon, W. Buku ajar praktis bedah mulut. Jakarta: Penerbit Buku EGC, 1996. p. 32-28
- Peterson, B., Whang, P.G., Iglesias, R., Wang, J.C., Lieberman, J.R. 2004. Osteoinductivity of commercially available demineralized bone matrix Preparations in a spine fusion model. J Bone Joint Surg Am; 86:2243–50.
- Peterson, L.J. 2004. *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2nd ed., London: BC Decker Inc. P. 322-313.
- Prince, S.A., Wilson, L.M. 2005. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Jakarta, Indonesia: EGC.
- Pudyani, P. 2015. Pengaruh Kekurangan Protein Pre dan Postnatal Terhadap Mineralisasi Gigi. *Journal Of Dentistry Indonesia*, 8(2), 54 - 59.
- Purnama, E.F. 2006. Pengaruh Suhu Reaksi Terhadap Derajat Kristalinitas dan Komposisi Hidroksiapatit Dibuat dengan Media Air dan Cairan Tubuh Buatan (Synthetic Body Fluid) [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Ratih, Ngatijo, Widjaksana, Latief, A., Bambang. 2003. Aplikasi Hidroksiapatit di Bidang Medis. Yogyakarta: Proc.
- Reddy R., Swamy M.S.K. 2010. The use of hydroxyapatite as a bone graft substitute in orthopedic conditions. Indian J Orthop 39: 52-54.

- River, C. 1998. Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats – (CRL: (WI) BR) as a Function of Sex and Age. Technical Bulletin. Massachusetts: Charles River Laboratories.
- Robbins, S.L., Kumar, V. 2007. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Elsevier Saunders: Philadelphia.
- Ronald, V.M., Heri S. 2014. Chip Freeze Dried Cancellous Bone Allograft As Scaffold To Fill Small Bone Defect In Long Bone. Resident of Orthopaedic and Traumatology Department , Senior Consultant of Orthopaedic and Traumatology Department, Medical Faculty of Airlangga University/ Dr Soetomo General Hospital. Surabaya, Indonesia.
- Rustiawan, A., Vanda, J. 1990. Pengujian mutu pangan secara biologis. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Samuelson, D.A. 2007. Textbook of Veterinary Histology. Missouri: Saunders Elsevier.
- Saraf, S. 2006. Text Book Of Oral Pathology. First Edition. New Delhi, India : Jaypee Brother Medical Publisher Ltd.
- Seeman, E., Delmas, P.D. 2006. Bone Quality—The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N Rng J Med* (354): 2250-2261.
- Sherwood, L., 2011. Human Physiology from Cells to System. Ed. 8th, USA : Brook/Cole Cengage Learning.
- Sihombing, M., Raflizar. 2010. Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galur Cbs- Swiss) Dan Tikus Putih (Galur Wistar) di

Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis Dan Farmasi. Media Litbang Kesehatan. 10:12- 15.

Smith, J.B., Mangkoewidjojo, S. 1988. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*). Dalam: Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). hal 37-57.

Sudrajat, I. 2006. Perbandingan dan Hubungan Skor Histologi CD8+ dan Rasio Skor Histologi CD4+/CD8+ Disekitar Luka dengan dan Tanpa Infiltrasi Levobupivakain pada Penyembuhan Luka Pasca Insisi Studi Imunohistokimia pada Tikus Wistar. Tesis. Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Anastesi Universitas Diponegoro. Semarang.

Sugiyono. 2012. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Bandung: Alfabeta.

Summit, J. B., Robbins, W. J., Hilton, T. J., Schwartz, R. 2006. Fundamentals of Operative Dentistry. China: Quintessence.

Suryadi, T. 2007. Pelayanan Medik di Instalasi Gawat Darurat RSU Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh Ditinjau dari Sudut Pandang Bioetika, Hukum Kedokteran dan HAM. Makalah Akhir Program Non Gelar Bioetika, Hukum Kedokteran dan HAM.

Suryadi. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah. Tesis, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Depok.

Tae-II, K., Chong, P.C., Ming-Suk, H. 2010. Kemampuan Regenerasi Periodontal Equine Particulate Bone pada Defek Tulang Alveolar Kaninus. Journal of Periodontal and Implant Science, 40:220-226.

- Takenaka, K. 2011. Bone Remodeling Simulation Focused on Bone Remodeling Cycle. Department of Biosystems Science, Institute for Frontier Life and Medical Sciences. Kyoto University.
- Tarigan, R. 2013. Karies gigi edisi 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 15-90.
- Tortora, G.J, Derrickson, B. 2008. Principles of Anatomy and Physiology: The Skeletal System. 12th USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Wang, R., Zou, Y., Yuan, Z., Wang, Y., Chen, Y., Mao, Y., Zhu, Z.A., Li, H., Tang, X., Lu, J., Yi, J. 2009. Autografts and xenografts of skin fibroblasts delivering BMP-2 effectively promote orthotopic and ectopic osteogenesis. *Anat Rec* 292: 777-786.
- Wistar Institute. 2014. Our History. Philadelphia: The Wistar Institute <http://www.wistar.org>. Diakses 22 Agustus 2017.
- Wolfensohn, S., Lloyd, M. 1998. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Blackwell Science Ltd.
- Wray, D., Stenhouse, D., Lee, D., Clark, A.J.E. 2003. Textbook for General and Oral Surgery. UK: Churchill Livingstone; p.206, 216-7.
- Young-Kyun, K., Junho, L. ,In-Woong, U., Kyung-Wook, K., Masaru, M., Toshiyuki, A., Masaharu, M. 2013. Tooth derived bone graft material. *J Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*; 39: 103-11.